

**Vergleich einiger Aspekte
der Steuerung der Ovulation
bei Meriones Shawi und andern Nagern**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie

vorgelegt der

Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Basel

von

PETER URS SPRECHER

aus Basel

aku-Fotodruck

Basel

1975

1973

**Vergleich einiger Aspekte
der Steuerung der Ovulation
bei Meriones Shawi und andern Nagern**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie

vorgelegt der

Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Basel

von

PETER URS SPRECHER

aus Basel

aku-Fotodruck

Basel

1975

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
auf Antrag der

Herren Professoren Dr.sc.nat. Edward W. Flückiger und Dr. Werner
Stingelin

Basel, den 18. 12. 1973

Prof. Dr. M. Eichler, Dekan



INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG

2 TIERE

2.1 Herkunft der Tiere

2.2 Haltung und Zucht

2.2.1 Meriones

2.2.2 Ratten

3 METHODIK

3.1 Vaginalabstriche

3.2 Bestimmen der Eierzahl

3.3 LH-Bestimmungen

3.3.1 Einleitung

3.3.2 Präparation der Hypophysenvorderlappen (HVL)

3.3.3 Biologische LH-Bestimmung (OAAD-Test)

3.3.4 Radioimmunologische LH-Bestimmung (RIA)

3.4 Statistik

RESULTATE

4 ZYKLISCHE VERAENDERUNGEN DER FORTPFLANZUNGSORGANE

4.1 Einleitung

4.2 Veränderung des Vaginalabstrichs während des Oestruszyklus

4.2.1 Meriones

4.2.2 Ratte

4.2.3 Goldhamster

4.2.4 Maus

4.2.5 Diskussion

4.3 Zyklische Veränderungen von Ovar, Uterus und Hypophyse

4.3.1 Einleitung

4.3.2 Resultate

4.3.3 Diskussion

- 5 ZEITPUNKT DER OVULATION
- 5.1 Einleitung und Versuchsanordnung
- 5.2 Resultate
- 5.3 Diskussion

- 6 ZEITPUNKT DER PRAEOVULATORISCHEN LH-AUSSCHUETTUNG
- 6.1 Einleitung
- 6.2 Resultate
- 6.3 Diskussion

- 7 HEMMUNG DER OVULATION MIT VERSCHIEDENEN ZNS-WIRK-
 SAMEN PHARMAKOLOGISCHEN SUBSTANZEN
- 7.1 Einleitung
- 7.2 Versuchsanordnung
- 7.3 Resultate
- 7.4 Diskussion

- 8 LH-GEHALT IN DER HYPOPHYSE UND IM SERUM
- 8.1 Einleitung
- 8.2 Versuchsanordnung
- 8.3 Resultate
- 8.4 Diskussion

- 9 ZUSAMMENFASSUNG
- 10 LITERATURVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG

Wüstentiere zeigen oft interessante physiologische Anpassungen an die oekologischen Bedingungen ihres Lebensraumes. In erster Linie zeigt bei *Meriones shawi* der Wasser- und Salzhaushalt Verhältnisse, welche die Tiere für das Leben in ariden Gebieten bevorteilen (HUMMEL (32)). Dass auch in fortpflanzungsphysiologischer Hinsicht interessante Besonderheiten vorliegen zeigte SALZMANN (52). So weist *Meriones* zwar einen sehr regelmässigen viertägigen Oestruszyklus auf, lässt sich aber leicht in Pseudogravidität versetzen. Auch ist die Tragzeit bei gleichzeitiger Laktation stark verlängert (SALZMANN (52)). Alle diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass zwischen *Meriones* und den üblichen Nagern (Ratte, Maus, evtl. Goldhamster) spezifische Unterschiede in der Regulation der Gonadotropinsekretion bestehen müssten.

Der Vergleich einiger Aspekte der endokrinen Steuerung der Ovulation bei *Meriones* und anderen spontan ovulierenden Nagern bildet der Inhalt der vorliegenden Arbeit. Auch wurde das von SCHWARTZ (55) vorgeschlagene Modell für die Regulation der Ovulation bei der Ratte auf seine Uebereinstimmung mit den bei *Meriones* gefundenen Verhältnissen geprüft. Im Vordergrund stand die Frage, ob die Vorgänge, welche zur Ovulation führen bei *Meriones* und Ratte dieselben sind.

Um einen Ausgangspunkt für unsere Versuche zu haben, mussten wir zunächst einmal aufklären, wann die Ovulation stattfindet. Danach galt unsere Aufmerksamkeit dem Zeitraum, in welchem der Entscheid fällt, ob das Tier ovuliert oder nicht. Auch die 24-Stunden-Zyklizität dieser für die Ovulation bedeutsamen Phase war Gegenstand unserer Betrachtungen.

Die hypothalamo-hypophysäre Achse und die Aenderungen des endo- und neuroendokrinen Zustandes derselben, hervorgerufen

durch übergeordnete Reize, sind die eigentlichen Regulationsmechanismen des Ovarialzyklus. Von besonderem Interesse ist der Mechanismus welcher die Sekretion und Ausschüttung von FSH und/oder LH steuert, da dieser bei *Meriones* wahrscheinlich stabiler und daher schwerer zu beeinflussen ist als bei der Ratte (SALZMANN (52)). Immerhin sind 90% aller Zyklen von einzeln gehaltenen *Meriones* von viertägiger Dauer (SALZMANN (52)), während die Ratte nur in 70% ihrer Zyklen eine Dauer von vier oder fünf Tagen aufweist (SCHWARTZ (55)).

Der Auslöser, welcher bei der Ratte zur Ovulation führt, ist an eine 24-Stunden-Periodizität gebunden (EVERETT (23)). Ausserdem wird er noch durch einen regelmässigen Licht-Dunkel-Wechsel gesteuert. Auch die Tatsache, dass bei der Ratte nur vier- oder fünftägige Zyklen, aber keine von intermediärer Länge auftreten (SCHWARTZ (55)), bestätigt das Vorhandensein dieser endogenen Rhythmik. Des weiteren darf auch das Auftreten von Daueroestren unter Dauerlicht als Beweis für diese Theorie angesehen werden.

Wird der Impuls dieses Zeitgebers durch Manipulation der hypothalamo-hypophysären Achse oder der übergeordneten Zentren blockiert, so wird am nächsten Tag erneut ein Impuls ausgesandt. Die Bindung dieses Stimulus an eine feste Tageszeit zeigte EVERETT (22), als er nachweisen konnte, dass bei Ratten unter konstanten Lichtverhältnissen (05.00 - 19.00 Uhr Licht) am Nachmittag des Prooestrus eine für die Ovulation notwendige LH-Ausschüttung stattfindet. Wird diese LH-Freisetzung verhindert, so wird sie am nächsten Tag zur selben Zeit auftreten. Allerdings wird gleichzeitig auch FSH aus der Hypophyse freigesetzt (CALLIGARIS et al. (14), McCLINTOCK & SCHWARTZ (41)), so dass man besser von einer Freisetzung der an der Ovulation beteiligten hypophysären Gonadotropinen spricht (EVERETT (22), "Ovulating hormone(s)").

Die Freisetzung dieser Hormone kann durch ZNS-wirksame, nicht-steroidale Pharmaka blockiert werden (PIVA et al. (50)). Ebenso

ist es möglich, durch elektrische und elektrochemische Reizung des Hypothalamus (EVERETT (19), CRITCHLOW (16)) und der übergeordneten Zentren (SAWYER (54), EVERETT (20)), die Ovulation zu induzieren oder zu hemmen. In einer Reihe von Versuchen mit ZNS-wirksamen Substanzen versuchten wir die zentrale Regulation der LH-Freisetzung zu beeinflussen und vergleichende Betrachtungen zwischen Meriones und Ratte anzustellen.

Gleichzeitig galt es die natürlichen endokrinen Verhältnisse in Hypophyse und Serum von Ratte und Meriones festzuhalten.

Aufgrund der gesamten Untersuchungen soll abschliessend versucht werden eine vergleichende Aussage über die Mechanismen zu machen, welche die Ovulation bei Meriones und Ratte steuern.

Herr Prof. Dr. E.W. Flückiger möchte ich an dieser Stelle für die Problemstellung, sowie die Hinweise und Ratschläge mit denen er mit zur Seite stand danken. Mein Dank gilt aber auch dem Personal der Endokrinologie-Labors der SANDOZ AG, insbesondere Fr. Dr. Marko und Herrn Dr. Niederer, für die Mithilfe und Durchführung der LH-Bestimmungen.

2 TIERE

2.1 Herkunft der Tiere

Meriones shawi shawi Duvernoy (Genus: *Meriones*, Familie: Cricetidae) bewohnt den Nordrand der Sahara von Algerien bis Aegypten. Einige dieser Tiere kamen 1954 aus dem Pasteur-Institut in Tunis nach Basel (SALZMANN (52)). Seit 1957 wurden sie in der SANDOZ AG gezüchtet. 1970 wurde diese Zucht aufgegeben und die Tiere kamen ins Zoologische Institut.

Rattus norvegicus var. *alba* (Stamm: SIV) diente bei unseren Versuchen als Vergleichstier. Die Tiere stammten aus der Firma SANDOZ AG, welche die Ratten ihrerseits von der Firma IVANOVAS in Kisslegg (Allgäu/Deutschland) bezieht.

2.2 Haltung und Zucht

2.2.1 Meriones

Die Tiere wurden in Plastikwannen (42 x 26 x 15 cm, MAKROLON^R) gehalten. Der Käfigboden war mit Sägemehl bestreut. Ausserdem erhielten die Tiere Stroh oder Heu und kleine Holzwürfel zum Benagen.

Im Tierzuchtraum herrschen konstante Bedingungen. Die Temperatur beträgt $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, die relative Luftfeuchtigkeit liegt bei 30 - 40%. Die Fenster sind lichtisoliert, so dass auch konstante Lichtverhältnisse herrschen. Das Licht wird um 05.00 Uhr ein- und um 19.00 Uhr ausgeschaltet, so dass ein Hell-Dunkelrhythmus von 14:10 Stunden vorliegt.

Versuchstiere wurden je nach Platzverhältnissen ein bis drei Tiere in einer Wanne gelassen. Als Idealzustand ist ein Weibchen pro Käfig zu bezeichnen, da so die grösste Zahl regelmässiger Zyklen erhalten wird. Zur Zucht brachten wir je ein Weibchen und ein Männchen zusammen. Störte der Bock das säugende Weibchen nicht, so wurde er in der Wanne belassen.

Unter diesen Umständen fand häufig eine Begattung im Post-partumoestrus statt. Die normale Tragzeit bei Meriones liegt bei 20 - 21 Tagen (SALZMANN (52)): Die Jungen blieben während eines Monates bei der Mutter. Danach wurden sie getrennt und vor Erreichen der Geschlechtsreife (ca. 60.Tag) nach Geschlechtern separiert.

Die Wüstenratten wurden dreimal wöchentlich gefüttert. Sie erhielten jedesmal frische Karotten und zweimal wöchentlich Hundekuchen ("Alex", Firma BRACHER, Papiermühle/Bern), welche Grünfutter, Fleisch, Kohle und Vitaminzusätze in Trockenform enthalten. Ausserdem wurden ihnen einmal pro Woche ein gemischtes Körnerfutter angeboten. Im Gitter standen Rattenwürfel (NAFAG, Gossau) zur Verfügung, die jedoch nicht zur bevorzugten Nahrung gehörten. Wasser wurde keines angeboten.

2.2.2 Ratten

Die Rattenweibchen wurden in Gruppen zu je fünf Tieren in Makrolon-Plastikwannen gehalten. Im Gitter standen Rattenwürfel (NAFAG) und Wasser ad libitum zur Verfügung. Die Käfige waren mit Sägemehl ausgestreut.

3 METHODIK

3.1 Vaginalabstriche

Vaginalabstriche wurden täglich - ausgenommen samstags oder sonntags von allen Versuchs- und Zuchttieren hergestellt. Um ein einheitliches Zellbild zu erhalten, führten wir die Abstriche vor 10.00 Uhr aus. Das Vaginalsekret wurde mittels einer Eppendorf-Mikropipette (100 Mikroliter) entnommen. Die mit Wasser gefüllte Pipette wurde sorgfältig in die Vagina eingeschoben oder aufgesetzt, das Wasser zweimal eingespritzt und wieder aufgesogen. Der Abstrich wurde auf eine Glasplatte gegeben (17.5 x 12.5 cm, in 25 Felder aufgeteilt) und in einem Wärmeschrank bei ca. 80°C getrocknet. Die Platte mit den getrockneten Abstrichen wurde anschliessend ca. 1 Minute lang mit Methylblau (nach Löffler) angefärbt, der überschüssige Farbstoff unter fliessenden Wasser gewaschen und die Rückseite der Platte trockengerieben. Danach konnten die Abstriche unter einem Mikroskop (WILD M 11) bei 100-facher Vergrösserung ausgewertet und tabelliert werden. Alle Tiere mussten, bevor sie in einen Versuch gelangten, mindestens zwei regelmässige, viertägige Zyklen aufweisen (Tag 1 = Metoestrus). Bei Meriones sind die einzelnen Zyklusstadien (SALZMANN (52)) denen der Ratte (LONG & EVANS (39)) sehr ähnlich. Die Zellbilder des Vaginalausstrichs unterscheiden sich dagegen sehr stark von denen des Goldhamsters (WARD (62)), obwohl beide Spezies zur gleichen Familie gehören und beide sich durch sehr stabile viertägige Zyklen auszeichnen. Nach SALZMANN (52) sind 89.9% der Zyklen von Meriones von viertägiger Dauer.

3.2 Bestimmen der Eierzahl

Um festzustellen, ob ein Tier ovuliert hat und wieviele Follikel gesprungen waren, mussten wir die Ovidukte auf das Vorhandensein von Eiern kontrollieren. Dazu wurden die Tiere am Morgen nach der Ovulation (= Tag 4: Oestrus) mit Aether ge-

tötet und von ventral geöffnet. Das Ovar wurde mit einer Pinzette nach oben gezogen und mit dem Ovidukte (Tube) vom Uterus getrennt und herauspräpariert. Mit einer feinen Schere konnte der Ovidukt vom Ovar weggeschnitten werden. Hatte das Versuchstier ovuliert, so zeigte sich dies an einer leichten, durch Eier und Antrumflüssigkeit hervorgerufenen Schwellung am ampullären Ende der Tube. Unter einer Binokularlupe (12.5-fache Vergrößerung) konnte dieses Ende mit einer sehr feinen Schere weggeschnitten und die Eier herausgedrückt werden. Dank der hohen Viskosität der Antrumflüssigkeit blieben die Eier beieinander liegen und konnten leicht ausgezählt werden. Zusätzlich wurden die Ovarien auf das Vorhandensein frisch gesprungener Follikel, bzw. sprungreifer Follikel geprüft.

Bei den meisten Versuchen wurden auch Ovarien, Uterus und Hypophyse (Vorderlappen) präpariert und ihr Frischgewicht auf einer Mettlerwaage festgestellt.

3.3 LH-Bestimmungen

3.3.1 Einleitung

Zur Anwendung gelangten zwei verschiedene Methoden der LH-Bestimmung. Die biologische Bestimmung beruht auf der Eigenschaft von LH (und HCG), den Gehalt an Ascorbinsäure in den Ovarien infantiler Ratten zu senken. Um einen möglichst hohen und konstanten Ascorbinsäuregehalt zu erreichen, werden die juvenilen Tiere mehrere Male mit hohen Dosen von PMS und HCG vorbehandelt. Diese Methode wurde 1958 von PARLOW (49) entwickelt und ist als "Ovarian-Ascorbic-Acid-Depletion-Test" (OAAD-Test) bekannt. Wir verwendeten diese Methode um den LH-Gehalt der Hypophysen von Ratten und Meriones zu bestimmen (nähere Beschreibung: 3.3.3). Eine Analogie der Wirkung von LH auf die Ovarien besteht zwischen ACTH und der Nebenniere.

Im Serum wurde LH radioimmunologisch bestimmt. Diese Methode

beruht auf einer Bindung des LH's an radioaktiv markierte Antikörper. Die mit biologischen und immunologischen Methoden gefundenen Werte sind in ihrer absoluten Höhe nicht identisch.

3.3.2 Praeparation der Hypophysenvorderlappen (HVL)

Die als Spendertiere bestimmten Ratten und Meriones wurden mit Aether betäubt und anschliessend geköpft. Das Blut wurde gesammelt und bei 3600 RPM während 10 Minuten zentrifugiert. Das Serum wurde abpipettiert und sofort auf Trockeneis tiefgefroren.

Die Hypophysen entnahmen wir mit einer feinen Pinzette, entfernten sorgfältig den Hinterlappen und wogen anschliessend den Vorderlappen auf Parafilm. Danach wurden die Hypophysen ebenfalls auf Trockeneis tiefgefroren und in einer Kühltruhe bei -20°C bis zum Versuch aufbewahrt (höchstens 3 Wochen).

Am Tag vor dem OAAD-Versuch wurden alle Hypophysen mit gekühlter Kochsalzlösung (0.5 ml 0.9% NaCl/HVL) in einem gekühlten Mörser zerrieben. Anschliessend zentrifugierten wir das Homogenat während 10 Minuten bei 5000 RPM. Die überstehende, leicht milchige Flüssigkeit wurde abdekantiert und sofort tiefgefroren.

3.3.3 Biologische LH-Bestimmung (OAAD-Test)

Wir bestimmten den LH-Gehalt des HVL-Extraktes nach einer in der SANDOZ AG modifizierten Methode des OAAD-Tests nach PARLOW (49). Nach einer Reihe von Versuchen im Zoologischen Institut, bei welchen leider keine idealen Bedingungen geschaffen werden konnten (hohe Aktivitätsverluste), sind die Versuche im Endokrinologie-Labor der SANDOZ AG durchgeführt worden.

Als Empfänger-Ratten wurden 28 Tage alte Ratten (IVANOVAS) zweimal mit 50 IE PMS (GESTYL, ORGANON-OSS) und einmal mit

25 IE HCG (PREGNYL, ORGANON-OSS) vorbehandelt. Am Versuchstag wurde das HVL-HOMOGENAT bzw. der STANDARD in einem Volumen von 0.5 ml/100 g Körpergewicht i.v. injiziert. Als Standard dienten uns drei, in einem Versuch vier, Dosen von HCG (1 IE HCG entspricht 0.5 µg LH) und zwar in den Dosen 10.0; 3.16; 1.0 für Ratten und 3.16; 1.0 und 0.316 IE bei Meriones. Die Testdosen waren 1.0; 0.316 und 0.1 HVL bei Ratte und Meriones. Vier Stunden nach der Injektion wurden die Ovarien entnommen, auf Parafilm gewogen und in einem gekühlten Mörser mit einer Spatelspitze Quarzsand homogenisiert. Das Homogenat wurde mit 8 ml gekühlter Meta-Phosphorsäure (2.8%) aufgenommen und tiefgekühlt.

An einem der nächsten Tage wurden die Proben möglichst schonend aufgetaut. Das Homogenat wurde nochmals gut gemischt und anschliessend 10 Minuten bei 5000 RPM zentrifugiert. In der überstehenden Flüssigkeit wurde der Ascorbinsäuregehalt mit 2.6-Dichlorphenol-Indophenol bestimmt. Die Extinktion massen wir mit einem EPPENDORF-Photometer bei 492 nm. Anschliessend wurde die Ascorbinsäure pro 100 mg Ovargewicht berechnet. Mit den Ascorbinsäurewerten der je drei Standard- und Testgruppen konnte mittels eines 6-Punkte-Testes die LH-Aktivität des HVL-Extraktes ermittelt werden. Zur Berechnung der Ascorbinsäure- und LH-Werte standen uns Programme zu einem OLIVETTI-Tischcomputer PROGRAMMA zur Verfügung.

3.3.4 Radioimmunologische LH-Bestimmung (RIA)

Die radioimmunologische Bestimmung der LH-Aktivität im Serum wurde freundlicherweise durch das Endokrinologie-Labor (Dr. Niederer) der SANDOZ AG vorgenommen.

Serumproben wurden nach der unter 3.3.2 beschriebenen Methode hergestellt und aufbewahrt. LH wurde mittels einer Dreifachbestimmung in 100 µl Proben oder Standard gemessen. Bei einigen Proben musste das Volumen auf 50 µl reduziert werden, da nur wenig Serum vorhanden war. Standard war ein in der

SANDOZ AG hergestellter Rattenhypophysenextrakt. Dieser wurde zuvor mit NIH-rat-LH-RP 1 abgestimmt. Als Antiserum diente Kaninchen-anti-Schweine-LH-Serum, das markierte Hormon war Schweine-LH-Jod¹²⁵. Die Auftrennung in freies und gebundenes Antiserum geschah durch WELLCOME Anti-rabbit-Ig (Esel). Die immunologische Aktivität wurde mit einem PACKARD-Scintillator gemessen und in NIH-rat-LH RP 1 (ng/nl) ausgedrückt.

3.4 Statistik

Bei allen Organgewichten wurden Mittelwerte und Standardabweichung berechnet und in den Tabellen angegeben. Wurden Mittelwerte miteinander verglichen, so überprüften wir die Resultate erst mit einem F-Test auf Signifikanz der Stichprobenvarianzen. Anschliessend wurden die Mittelwerte mit einem Student-"t"-Test miteinander verglichen und auf Signifikanz der Differenzen untersucht. Zeigten sich die Varianzen verschieden, so durfte der "t"-Test nicht angewandt werden (CAVALLI-SFORZA (15)). Beim gleichzeitigen Vergleich mehrerer Zyklusstadien wurden die Mittelwerte in einer Varianzanalyse auf das Vorhandensein von gesicherten Unterschieden geprüft.

Bei den LH-Werten (Hypophyse) wurde an Stelle der Standardabweichung die 95%-Vertrauensgrenze berechnet. Bei den Serumwerten sind die Resultate als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung angegeben.

4 ZYKLISCHE VERAENDERUNGEN DER FORTPFLANZUNGSORGANE

4.1 Einleitung

Der Zustand der Fortpflanzungsorgane, besonders dejenige von Ovarien und Uterus sind Ausdruck des jeweiligen endokrinen Zustandes des Tiers. So verändert sich die Schleimhaut der Vagina täglich und wir erhalten im Vaginalausstrich die typischen Zell-

bilder, die uns erlauben die einzelnen Zyklusstadien zu definieren. Ein Vergleich zwischen verschiedenen Nagerspezies zeigt uns, dass im Auftreten der einzelnen Zelltypen grosse Differenzen auftreten können. Auch der Uterus und dessen Schleimhaut sind starken zyklischen Schwankungen unterworfen. Ausser Vaginalabstrich und Uterusgewicht hielten wir noch die Organgewichte von Ovar und Hypophyse in den einzelnen Zyklusstadien fest.

4.2 Veränderungen des Vaginalabstrichs während des Oestruszyklus

4.2.1 Meriones

Bereits LATASTE (36) beschreibt unter anderem den Zyklus von *Meriones shawi*. Er gibt die Länge der Dioestrusphase für *Meriones* und andere Nager mit gewöhnlich 10 Tagen an. Genauere Untersuchungen des Oestruszyklus von *Meriones shawi* stammen von SALZMANN (52). Er konnte die einzelnen Zyklusstadien anhand des Vaginalabstrichs sehr genau definieren. Er fand, dass die Zykluslänge in rund 90% der untersuchten Fälle vier Tage betrug.

Der Prooestrus ist durch das Vorherrschen der Epithelzellen charakterisiert. Daneben finden sich noch Leukozyten oder bereits Schollen, diese beiden Zelltypen allerdings jeweils nur in sehr geringer Anzahl.

Am Tag des Oestrus (definiert als der Tag, an welchem Eier im Ovidukt gefunden werden) zeigt sich das auch für Ratten typische Bild polygonaler, verhornter Schollen ("Cornified cells").

Ein Metoestrus (Schollen-Leukozyten-Stadium oder Stadium 4 nach LONG & EVANS (39)) zeigt sich im Ausstrichbild von *Meriones* nur selten und dann für kurze Zeit. Der auf den Oestrus folgende Tag zeigt meist einen typischen Postoestrus ausstrich mit vielen Leukozyten und vereinzelt Schollen.

Der Dioestrusausstrich ist durch Leukozyten und eine zunehmende Zahl von Epithelzellen mit grossen Kernen ausgezeichnet. Bemerkenswert ist das von SALZMANN (52) festgestellte, kurzfristige Ansteigen von Epithelzellen im Abstrich zwischen Oestrus und Postoestrus. Auffallend sind auch die individuellen Verschiedenheiten im Ausstrich der einzelnen Tiere.

4.2.2 Ratten

Der Vaginalzyklus der weissen Laborratte ist seit langem bekannt und von LONG & EVANS (39) bestens beschrieben worden. Er dient uns hier mit seinen typischen Ausstrichstadien als Vergleichsgrundlage. Im Prooestrus besteht der Ausstrich praktisch ausschliesslich aus grosskernigen Epithelzellen. Das Bild des Oestrus ist durch die Dominanz der Schollen definiert. Der Metoestrus lässt sich durch das zunehmende Auftreten von aktiven Leukozyten zwischen den Schollen bestimmen. Im Postoestrus nimmt die relative Zahl der Leukozyten weiter stark zu. Das Austrichbild des Dioestrus zeigt bereits wieder Epithelzellen zwischen den inaktiven Leukozyten.

Nach EVERETT (25) zeigen Tiere mit fünftägigen Zyklus eine verlängerte Phase des Schollenstadiums (Doppeloestrus, Ovulation am zweiten Oestrustag). SCHWARTZ (55) spricht von einem zweiten Dioestrustag bei Tieren mit einem Zyklus von fünf Tagen Dauer. Bei den Tieren unserer Kolonie zeigte sich, dass sowohl die verlängerte Oestrusphase, aber auch eine Ausdehnung der Dioestruslänge auftreten können.

4.2.3 Goldhamster (*Mesocricetus auratus*)

Da Meriones zur Familie der Cricetidae gehört, möchten wir den Goldhamster, soweit Literatur vorliegt, als Vergleichsspezies heranziehen. ORSINI (48) und ORSINI & SCHWARTZ (47) beschrieben den Vaginalzyklus des Goldhamsters genau. Am Tag vor der Ovulation, den sie als Tag 1 bezeichnen, sind drei verschiedene Stadien des Vaginausstrichs zu finden: Di-

oestrus, Prooestrus und Oestrus. Der darauffolgende Tag ist durch einen typischen Postoestrusabstrich gekennzeichnet. Der Ausstrich ist durch eine weisse, opake und klebrige Vaginalflüssigkeit, den "postoestrus discharge" charakterisiert. Ähnlich der Wüstenratte *Meriones* zeigt der Goldhamster einen extrem regelmässigen viertägigen Zyklus.

4.2.4 Maus

BINGEL & SCHWARTZ (9) geben in ihrer Arbeit eine exakte Zusammenstellung des zeitlichen Auftretens der drei im Vaginalabstrich vorkommenden Zellarten. Dabei kann festgestellt werden, dass nur am Tag des Dioestrus I eindeutige Verhältnisse vorliegen (Leukozyten und Epithelzellen), während an den anderen Tagen immer alle drei Zelltypen vorliegen können. Bei der Maus findet sich mehrheitlich eine Zykluslänge von 5 Tagen. Nur eine kleine Anzahl von Tieren zeigt einen viertägigen Zyklus. Ungefähr die Hälfte aller untersuchten Tiere zeigten ein azyklisches Ausstrichbild.

4.2.5 Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass mit einiger Erfahrung der Verlauf des Oestruszyklus anhand der Vaginalabstriche von Tieren, die in der gleichen Kolonie leben mit grosser Wahrscheinlichkeit festgelegt werden kann. Allerdings zeigen viele Tiere starke individuelle Schwankungen. Bei Tieren, die einen spontanen zweitägigen Oestrus zeigen, sind die Eier am zweiten Oestrustag im Ovidukt zu finden (Ratte, seltener bei *Meriones*).

Bei allen vier miteinander verglichenen Spezies treten zwar dieselben drei Zellarten auf, aber Zeitpunkt des Auftretens und relative Zahl der Zellen sind verschieden. Auch zeigt sich, was den Vaginalabstrich betrifft, keine Einheit innerhalb der Familie der Cricetidae, da *Meriones* und Goldhamster trotz der regelmässigen, viertägigen Zyklen starke Unter-

schiede im Ausstrichbild der einzelnen Zyklustage aufweisen.

4.3 Zyklische Veränderungen von Ovar, Uterus und Hypophyse

4.3.1 Einleitung

Ovar Uterus und Hypophyse stehen in einem engen Abhängigkeitsverhältnis untereinander. Durch die hypophysären Gonadotropine wird das Ovar zu seiner Tätigkeit, Wachstum der Follikel, Ovulation, Bildung und Regression der Gelbkörper einerseits, Produktion von Oestrogen und Progesteron andererseits, angeregt. Die Steroidhormone des Ovars wiederum beeinflussen den Zustand der Abkömmlinge des Müller'schen Ganges (Ovidukt, Uterus und Vagina (ROMER, 51)). Unsere Untersuchung galt der Frage, ob sich die Organgewichte im Laufe des Zyklus so verändern, dass signifikante Unterschiede festgestellt werden können.

4.3.2 Resultate

Von Ovar, Hypophyse und Uterus wurden die Organgewichte (frisch) festgehalten. Die Tabellen 4/1 bis 4/3 zeigen eigene Werte (Meriones) im Vergleich mit Angaben aus der Literatur. Tabelle 4/4 zeigt die statistische Auswertung unserer Ergebnisse.

Tabelle 4/1 : VERGLEICH DER OVARGEWICHTE (mg)

ZEITPUNKT	MERIONES	RATTE* 4-tägig	RATTE* 5-tägig	GOLD- HAMSTER**	MAUS*** 5-tägig
PROOESTRUS	21.80 + 4.09 - (8)	74.69 +19.27 - (30)	82.11 + 7.73 - (30)	21.4 + 2.7 - (9)	12.48 + 3.08 - (10)
OESTRUS	23.51 + 6.75 - (6)	80.95 +18.17 - (30)	72.53 +21.97 - (30)	24.6 + 2.1 - (10)	13.65 + 2.13 - (10)
METOESTRUS	14.94 + 2.01 - (8)	69.56 + 8.79 - (34)	72.13 + 8.22 - (47)	26.0 + 4.2 - (10)	12.89 + 2.59 - (11)
DIOESTRUS TAG I		69.91 + 7.38 - (30)	76.38 + 9.71 - (47)	23.3 + 2.7 - (12)	13.77 + 3.18 - (16)
DIOESTRUS TAG II			83.89 +10.34 - (30)		12.33 + 1.85 - (10)
AZYKLISCHE WEIBCHEN	24.24 + 6.48 - (12)	13.74 + 7.19 - (8)		26.7 +6.5 - (13)	

* Resultate von McLINTOCK & SCHWARTZ 1968 (41)
 ** Resultate von ORSINI & SCHWARTZ 1966 (47)
 *** Resultate von BINGEL & SCHWARTZ 1969 (9)

Tabelle 4/2 : VERGLEICH DER UTERUSGEWICHTE (FRISCH, mg)

ZEITPUNKT	MERIONES	RATTE* 4-tägig	RATTE* 5-tägig	GOLD- HAMSTER**	MAUS*** 5-tägig
PROOESTRUS	190.75 + 41.22 - (8)	493.4 + 57.7 - (30)	504.9 + 56.8 - (30)	388 + 37 - (9)	206.32 + 42.43 - (12)
OESTRUS	270.16 + 89.45 - (6)	410.7 + 40.5 - (30)	381.9 + 44.3 - (30)	287 + 69 - (10)	171.90 + 23.41 - (13)
METOESTRUS	121.44 + 18.17 - (8)	293.0 + 27.8 - (34)	288.1 + 28.3 - (47)	202 + 37 - (10)	104.89 + 13.21 - (13)
DIOESTRUS TAG I		308.2 + 46.9 - (30)	299.1 + 39.7 - (47)	254 + 48 - (12)	94.36 + 15.51 - (19)
DIOESTRUS TAG II			432.0 + 62.1 - (30)		116.71 + 19.91 - (12)
AZYKLISCHE WEIBCHEN	53.55 + 8.61 - (12)	39.36 + 7.19 - (8)		94 + 39 - (13)	

* Resultate von McCLINTOCK & SCHWARTZ 1968 (41)

** Resultate von ORSINI & SCHWARTZ 1966 (47)

*** Resultate von BINGEL & SCHWARTZ 1969 (9)

Tabelle 4/3 : VERGLEICH DER HYPOPHYSENGEWICHTE (HVL, mg)

ZEITPUNKT	MERIONES	RATTE* 4-tägig	RATTE* 5-tägig	GOLD- HAMSTER**	MAUS*** 5-tägig
PROESTRUS	5.25 +1.17 - (8)	9.78 +1.37 - (30)	10.70 +1.45 - (30)	3.02 +0.64 - (9)	2.05 +0.65 - (12)
OESTRUS	7.04 +1.03 - (6)	10.24 +1.99 - (30)	9.96 +1.21 - (30)	3.31 +0.74 - (10)	2.45 +0.36 - (12)
METOESTRUS	5.21 +1.06 - (8)	8.69 +1.72 - (34)	9.30 +1.41 - (47)	3.27 +0.58 - (10)	1.92 +0.30 - (12)
DIOESTRUS TAG I		9.42 +1.35 - (30)	9.02 +1.34 - (47)	3.22 +0.63 - (12)	1.90 +0.52 - (18)
DIOESTRUS TAG II			9.58 +1.24 - (30)		1.92 +0.30 - (12)
AZYKLISCHE WEIBCHEN	3.13 3.44 +0.94 +0.83 - (12) (8)			2.34 +0.51 - (13)	

* Resultate von McCLINTOCK & SCHWARTZ 1968 (41)

** Resultate von ORSINI & SCHWARTZ 1966 (47)

*** Resultate von BINGEL & SCHWARTZ 1969 (9)

Tabelle 4/4 :

STATISTISCHER VERGLEICH DER ORGANGEWICHTE IN VERSCHIEDENEN ZYKLUSSTADIEN BEI MERIONES

ORGAN	ZYKLUS-STADIUM TEST	PROOESTRUS vs OESTRUS		OESTRUS vs METOESTRUS		METOESTRUS vs PROOESTRUS		VARIANZANALYSE	
		"t"/"F"	Fr'gr.	"t"/"F"	Fr'gr.	"t"/"F"	Fr'gr.	"F"	Fr'gr.
OVAR	"t-Test"	0.79 (N.S.)	26	4.66 (***)	26	5.80 (***)	30	15.29 **	2/41
	"F-Test"	2.69 *	11/15	8.49 **	11/15	3.15 *	15/15		
UTERUS	"t-Test"	-2.22 (*)	12	4.62 (***)	12	4.32 (***)	14	13.3 **	2/19
	"F-Test"	4.71 *	7/5	5.14 *	5/7	24.24 **	7/7		
HVL	"t-Test"	-2.97 *	12	3.21 *	12	0.04 N.S.	14	5.94 *	2/19
	"F-Test"	1.30 N.S.	7/5	1.07 N.S.	5/7	1.21 N.S.	7/7		

* p kleiner 0,05

** p kleiner 0,01

*** p kleiner 0,001

() "t-Test" ungültig, da der "F-Test" signifikante Unterschiede der Varianzen ergibt.

Fr'gr. : Anzahl der Freiheitsgrade

Die Höchstwerte sind bei Meriones bei allen drei untersuchten Organen am Tag des Oestrus zu finden. Doch sind nur die Gewichtsänderungen der Hypophyse statistisch gesichert.

Die Ovargewichte zeigen nur kleine Differenzen zwischen den einzelnen Zyklustagen. Die Höchstwerte sind nur bei Meriones und Ratte (4-tägiger Zyklus) am Tag des Oestrus zu finden. Bei den anderen drei Gruppen liegen sie an verschiedenen anderen Tagen des Zyklus vor (Tabelle 4/1).

Das Uterusgewicht zeigt bei Meriones im Laufe des Oestruszyklus ähnlich grosse Schwankungen wie bei den drei andern Arten. Allerdings fällt uns das relativ geringe Uterusgewicht im Vergleich mit dem Körpergewicht auf, haben doch Maus und Goldhamster trotz kleinerem Körpergewicht Uteri, deren Gewicht etwa demjenigen bei Meriones entspricht. Bemerkenswert scheint uns auch die Tatsache, dass bei Meriones keine präovulatorische Schwellung des Uterus zu finden ist. Der Uterus ist sowohl am Tag des Prooestrus als auch des Oestrus stark durchblutet und zeigt Neigung zur Blähung, die aber am Tag des Oestrus eher stärker ist als im Prooestrus. So können auch die grossen Streuungen der Gewichte erklärt werden. Alle anderen drei Nagerspezies weisen das Höchstgewicht des Uterus am Tag des Prooestrus auf. Bei den azyklischen Tieren ist neben dem niedrigen HVL-Gewicht die Atrophie des Uterus auffällig. Er ist nur noch ein dünner, weisslicher Schlauch und scheint keinen zyklischen Veränderungen mehr zu unterliegen. Die Ursache der Atrophie des Uterus ist ebenfalls ungeklärt. ORSINI & SCHWARTZ (42) fanden beim Goldhamster, dass die Atrophie auf eine drastische Reduktion der ovariellen Steroidproduktion zurückzuführen ist. Diese wiederum scheint ihre Ursache im Ausbleiben der LH-Ausschüttung zu haben, da der LH-Gehalt des HVL trotz niedrigerem HVL-Gewichts sich auf Prooestrusebene hält.

Das Hypophysengewicht ist wiederum bei allen verglichenen Gruppen mit Ausnahme der fünftägig zyklisierenden Ratte am

Oestrustage am höchsten. Auffällig ist hier das niedere HVL-Gewicht bei den azyklischen Weibchen von Meriones und Goldhamster. Es liegt eindeutig niedriger als bei den zyklisierenden Tieren.

4.3.3 Diskussion

Meriones zeigt ähnlich anderen Nagerspezies zyklusbedingte Veränderungen der Fortpflanzungsorgane. Leider konnten nur beim Hypophysengewicht statistisch gesicherte Unterschiede gefunden werden. Die grossen Unterschiede sind vor allem darauf zurückzuführen, dass wegen der kleinen Tierzahl die Tiere in Bezug auf Alter und Gewicht nicht standardisiert werden konnten.

Das Fehlen einer eindeutigen präovulatorischen Blähung ("ballooned uterus") wie ihn vor allem die Ratte zeigt (LONG & EVANS (49), ASTWOOD (5)) ist der auffälligste Unterschied zu den drei Vergleichstieren. Das "ballooning" ist vor allem auf die intrauterine Flüssigkeit zurückzuführen. Oestrogen bewirkt im Uterus eine verstärkte Durchblutung und eine starke Zunahme des Wassergehaltes. Bei Meriones ist die Zahl der springenden Follikel mit durchschnittlich 8 Eier sehr viel kleiner als bei Ratte, Maus und Goldhamster. Es ist also möglich, dass die produzierte Oestrogenmenge bei Meriones nicht ausreicht um den Wassergehalt und die Durchblutung entsprechend zu steigern. Andererseits ist Meriones als Tier der ariden Zonen auf einen besonderen Wasserhaushalt angewiesen, so dass die kleinere Menge an intrauteriner Flüssigkeit auch eine Anpassung an das Leben in ariden Gebieten sein könnte. Welche Ursache der geringen oder ganz fehlenden Ausbildung der intrauterinen Flüssigkeit bei Meriones zugrunde liegt ist jedoch unbekannt.

5 ZEITPUNKT DER OVULATION

5.1 Einleitung und Versuchsanordnung

Um einen Ausgangspunkt für unsere weiteren Untersuchungen über das Geschehen während des Oestruszyklus zu erhalten, bestimmten wir zunächst den genauen Zeitpunkt der Ovulation. Bei Meriones findet die Ovulation nach SALZMANN (52) in der Nacht vom Prooestrus zum Oestrus statt.

Als Versuchsobjekte dienten uns virginelle Merionesweibchen im Alter von 90 bis 150 Tagen. Des weiteren wurde darauf geachtet, dass das Körpergewicht zwischen 100 und 150 g lag. Zeigten die Tiere mindestens zwei aufeinander folgende viertägige Zyklen, so gelangten sie in der Nacht, die auf den nächsten Prooestrus-Ausstrich folgte in den Versuch. Gruppen von je fünf Weibchen pro Zeitpunkt (sechs Zeitpunkte zwischen 23.00 und 05.00 Uhr) wurden auf das Vorhandensein von frisch gesprungenen Eiern in den Tuben untersucht. Gleichzeitig hielten wir die Frischgewichte von Ovar, Uterus und HVL fest.

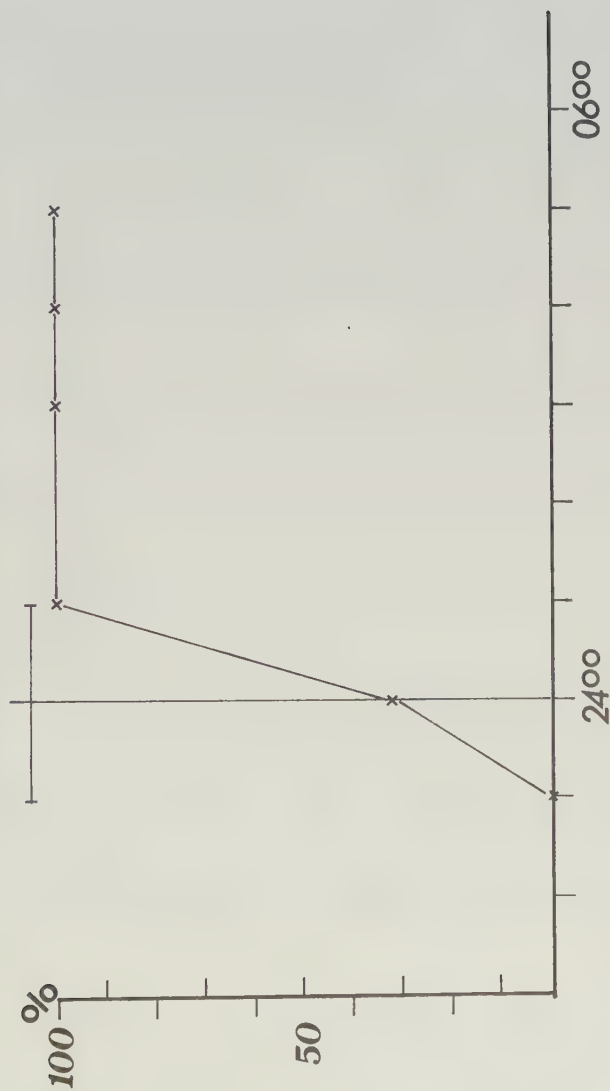
5.2 Resultate

Die Resultate sind in Tabelle 5/1 zusammengefasst. Sie zeigen, dass die Ovulation bei unseren Wüstenratten zwischen 23.00 und 01.00 Uhr eintritt. Bei der Gruppe, welche um 24.00 Uhr seziiert wurde, finden sich keine Tiere, bei denen die Ovulation im Gange ist. Die Tiere haben entweder schon vollständig ovuliert (2 Tiere mit je 8 Eiern) oder aber die Ovulation hat noch nicht begonnen. Um 01.00 Uhr hatten alle fünf Tiere bereits ovuliert (7, 9, 7, 8, 8 Eier, M = 7,8 Eier).

5.3. Diskussion

Die Ansichten der verschiedenen Autoren über den Zeitpunkt der Ovulation gehen stark auseinander. Als Ursachen dieser Divergenz scheinen einerseits Eigenheiten der verschiedenen

ZEITPUNKT DER OVULATION BEI MERIONES



Tierstämme, andererseits die verschieden langen Tag-Nacht-Rhythmen in Frage zu kommen.

Nach EVERETT (25) findet die Ovulation bei Vanderbilt-Ratten zwischen 01.00 und 02.30 Uhr am frühen Morgen des Oestrus statt, also rund 10 Stunden nach der kritischen Periode der LH-Ausschüttung. Bei der Ivanovas-Ratte in der SANDOZ AG fand MARKO (pers. Mitteilung (40)), dass die Ovulation zwischen 02.00 und 05.00 Uhr stattfindet. In dieser Kolonie fällt die Dunkelphase auf den Zeitraum zwischen 18.00 und 04.00 Uhr. Auch sind bei diesen Tieren die höchsten LH-Werte im Serum zu Beginn der Dunkelphase (19.00 Uhr) zu finden, die Ovulation ist rund 10 Stunden später zu Beginn der Lichtphase abgeschlossen.

Andere Autoren untersuchten die Ovulation im Zusammenhang mit dem Auftreten des Oestrus (Brunst), definiert als Paarungsbereitschaft des Weibchens (Lordosis). Gewöhnlich tritt die Lordosis bei Ratten zwischen 13.00 und 19.00 Uhr (Prooestrus) auf (BLANDAU et al (11)). Die Ovulation tritt im allgemeinen 9 Stunden (6.5 - 12.5 Stunden) später ein (BOLING et al. (13)), d.h. zwischen 19.00 Uhr (13 Uhr + 6.5 Stunden) am Abend des Prooestrus und 10.00 Uhr (22 Uhr + 12.5 Stunden) am Morgen des Oestrus. Dies ergibt einen bedeutend grösseren Zeitraum für die Ovulation, als die kurze Periode, wie sie von EVERETT beschrieben wird.

Bei der Maus findet die Ovulation zwischen 24.00 und 10.00 Uhr am Morgen des Oestrus statt. Im Gegensatz zu diesem Befund von BINGEL & SCHWARTZ (10) soll nach SNELL (58) die Ovulation ungefähr zwei Stunden nach Auftreten der Lordosis (22.00 bis 02.00 Uhr, LEWIS & WRIGHT (37), SNELL et al. (59)) einsetzen, was bedeuten würde, dass um 04.00 Uhr alle Eier vorhanden wären.

Ähnlich unklar sind die Verhältnisse beim Goldhamster. WARD (62) vermutet, dass der Höhepunkt der Ovulation um 01.00 Uhr zu finden ist und die Ovulation 1 - 2 Stunden dauert. STRAUSS (60) dagegen findet die grösste Zahl von Ovulationen um

03.00 Uhr. Auch beim Goldhamster ist ein Zusammenhang zwischen Auftreten der Brunst und Zeitpunkt der Ovulation festgestellt worden (HARVEY et al. (30)). Danach findet die Ovulation zwischen 23.00 und 06.00 Uhr statt, rund 8 - 9 Stunden nach Auftreten der Paarungsbereitschaft.

Sowohl bei Ratte (HEMINGSEN & KRARUP (31), AUSTIN & BRADEN (7)), Maus SNELL et al. (58)) wie auch beim Goldhamster (AUSTIN (6)) ist das Auftreten der Lordosis und der Beginn der Ovulation von der Hell-Dunkel-Periodizität abhängig. Bei Goldhamstern unter natürlichen Lichtverhältnissen fand WARD-ORSINI (63), dass die Paarungsbereitschaft im Sommer früher auftritt als im Winter.

Unsere eigenen Untersuchungen ergaben, dass bei Meriones die Ovulation innerhalb von zwei Stunden abläuft. Interessanterweise ist der Zeitraum auf je eine Stunde vor und nach Mitternacht (Koloniezeit = MEZ) beschränkt, also auf die Mitte der Dunkelphase. Allerdings untersuchten wir unsere Tiere nicht auf das Auftreten der Paarungsbereitschaft, da es uns nicht gelungen ist eine eindeutige Lordosis als Antwort auf einen manuellen Reiz der Pelvisgegend zu erhalten. Zwischen den Eierzahlen der einzelnen Gruppen sind keine signifikanten Unterschiede zu finden, so dass wir annehmen dürfen, dass um 01.00 Uhr die Ovulation beendet ist. Wir vermuten, dass alle Follikel eines Tieres innerhalb einer Stunde springen, da bei der um 24.00 Uhr seziierten Gruppe nur Tiere zu finden waren, bei denen entweder keine oder alle Eier vorhanden waren.

Die histologische Ueberprüfung einiger Ovarien von um 01.00 und 03.00 Uhr seziierten Tieren zeigte, dass nur in Bildung begriffene Gelbkörper und keine weiteren sprungreifen Follikel vorhanden waren.

6 ZEITPUNKT DER PRAEOVULATORISCHEN LH-AUSSCHÜTTUNG

6.1 Einleitung und Versuchsanordnung

EVERETT (22, 23, 24) zeigte, dass bei der Ratte die Ovulation durch Injektion von Barbituraten (Pentobarbital, Phenobarbital) um 14.00 Uhr oder früher verhindert werden kann. Dieselben Substanzen nach 16.00 Uhr appliziert zeigen keine hemmende Wirkung mehr. Er bezeichnet deshalb den Zeitraum zwischen 14.00 und 16.00 Uhr als "critical period" der für die Ovulation notwendigen Hormonausschüttung. Dieselbe Wirkung kann auch durch Hypophysektomie erzielt werden (EVERETT (22)). SCHWARTZ & CALDERELLI (56) konnten zeigen, dass bei mit Phenobarbital gehemmten Ratten keine LH-Ausschüttung stattfindet. Daraus kann geschlossen werden, dass (unter anderem) LH für den Eisprung notwendig ist.

Um festzustellen, ob der zeitliche Unterschied zwischen den Zeitpunkten der Ovulation bei Ratte und Meriones auch durch eine zeitliche Verschiebung der kritischen Phase der LH-Ausschüttung bedingt ist, versuchten wir in einem Parallelversuch zwischen Ratten und Meriones, den Zeitpunkt der LH-Freisetzung bei Tieren in unserer Kolonie festzuhalten.

Zur Verwendung gelangten nur virginelle Tiere, die mindestens zwei regelmässige Zyklen aufwiesen. Die Tiere wurden zu verschiedenen Zeiten am Tag des Prooestrus mit verschiedenen Dosen eines kurzwirksamen Barbiturates (Pentobarbital, NEMBU-TAL, ABBOTT) intraperitoneal behandelt. Zeigten die Tiere am nächsten Tag einen Oestrusausstrich, so wurden sie mit Aether getötet, geöffnet und ihre Tuben auf das Vorhandensein von frisch gesprungenen Eiern überprüft. Zeigte die anfänglich verwendete Dosis keine Wirkung, so wurde sie sukzessive erhöht.

Wüstenratten wurden ausserdem mit Phenobarbital, einem lang wirkenden Barbiturat behandelt, und dessen Wirkung auf die LH-Ausschüttung untersucht. Phenobarbital wurde sowohl subcutan

als auch intraperitoneal appliziert. Bei diesen Versuchen seziierten wir nur wenige Tiere am Tage nach der Injektion (Oestrus) um das Vorhandensein von Eiern zu überprüfen, sondern beurteilten die Tiere anhand des Vaginalausstrichs. Zeigten die Tiere am zweiten Tag nach der Injektion erneut einen Oestrusausstrich, so galt die Ovulation als gehemmt.

Als Injektionsvolumen wählten wir bei der Ratte 0.4 ml/100 g Körpergewicht, bei Meriones 0.6 ml/100 g Körpergewicht. Ausserdem wurden bei einigen Gruppen von Meriones die Gewichte der Fortpflanzungsorgane festgehalten.

Ausser bei den oben erwähnten Versuchen, hing die Beurteilung ob ein Tier ovuliert hat oder nicht, einzig davon ab, ob im ampullären Ende der Tube Eier gefunden wurden oder nicht. Wir verzichteten darauf, Tiere mit wenigen Eier auf weitere, sprungreife Follikel in den Ovarien zu untersuchen, sondern beurteilten alle Tiere mit Eier als nicht "gehemmt". Dies umsomehr, als bei Meriones auch während der normalen Zyklen nichtgesprungene Follikel auftreten können (SALZMANN (52)). Bei der Ratte konnte als zweites Kriterium einer Hemmung die Blähung des Uterus herangezogen werden. Bei Ausbleiben der Ovulation bleibt bei der Ratte dieses Prooestrus-Merkmal erhalten. Bei Meriones dagegen ist diese Schwellung nicht als Kriterium einer Hemmung zu gebrauchen, da sie häufig fehlt oder nur teilweise auftritt. Auch kann sie bei Meriones bei Oestrustieren gefunden werden, welche normal ovuliert haben.

6.2 Resultate

Tabelle 6/1 gibt eine Zusammenstellung der mit Nembutal bei Ratte und Meriones erhaltenen Resultate. Sie lassen eindeutig erkennen, dass es bei Meriones nicht möglich ist, mit Pentobarbital eine Hemmung der Ovulation d.h. eine Beeinflussung der LH-Freisetzung zu erzielen. Die Ergebnisse bei der Ratte zeigen, dass um 16.00 Uhr bereits bei 50% der Tieren die für die Ovulation notwendige Hormonmenge ausgeschüttet worden ist.

Tabelle 6/1 : ZEITPUNKT DER LH-AUSSCHÜTTUNG BEI RATTE UND MERIONES (NEMBUTAL)

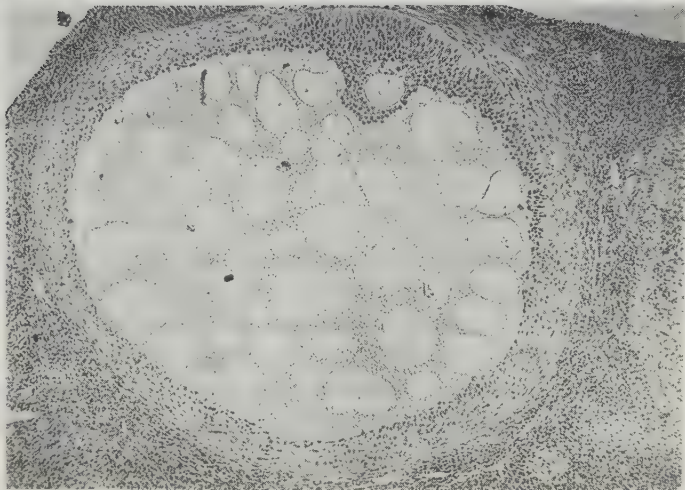
RATTE					MERIONES				
ZEIT	DOSIS & APPLIKATION	% HEMMUNG	n	OVULIERT/ GEHEMT	ZEIT	DOSIS & APPLIKATION	% HEMMUNG	n	OVULIERT/ GEHEMT
0900					0900	30 mg/kg i.p.	0	5	5 / 0.
1000					1000	50 mg/kg i.p. 80 mg/kg i.p.	(20) 0	5 10	4 / (1) 10 / 0.
1200	30 mg/kg i.p. 40 mg/kg i.p.	20 75	5 4	4 / 1 1 / 3	1200	30 mg/kg i.p. 80 mg/kg i.p.	0 0	4 2	4 / 0. 2 / 0.
1400	40 mg/kg i.p.	100	5	0 / 5	1400	30 mg/kg i.p. 50 mg/kg i.p.	0 (20)	7 5	7 / 0. 4 / (1)
1500					1500	30 mg/kg i.p.	0	5	5 / 0.
1600	40 mg/kg i.p.	50	6	3 / 3	1600				
1700	40 mg/kg i.p.	40	5	3 / 2	1700				
1800	40 mg/kg i.p.	20	5	4 / 1	1800				

Tabelle 6/2:

ZEITPUNKT DER LH-AUSSCHÜTTUNG (PHENOBARBITAL)

ZEIT	DOSES & APPLIKATION	% HEMMUNG	n	OVULIERT/ GEHEMT
1000	100 mg/kg i.p.	100	5	0 / 3
		100	5	0 / 3
1200	65 mg/kg s.c.	80	5	1 / 4
		80	5	1 / 4
1300	65 mg/kg i.p.	100	2	0 / 2
		100	2	0 / 2
1500	65 mg/kg i.p. s.c.	50	2	1 / 1
		0	1	1 / 0
		33	3	2 / 1
1700	65 mg/kg i.p. s.c.	100	2	0 / 2
		0	2	2 / 0
		50	4	2 / 2
1900	65 mg/kg s.c.	0	4	4 / 0
		0	4	4 / 0

Bild 6/3:

Follikel, 3. Oestrustag, nach
Phenobarbitalbehandlung

Die Resultate, welche bei Meriones mit Phenobarbital erhalten wurden, weisen auf eine verlängerte Phase der Hormonausschüttung hin. Es zeigte sich, dass zwar bei den um 15.00 Uhr behandelten Meriones bereits genügend LH ausgeschüttet worden sein kann; andererseits aber erst um 19.00 Uhr keine Hemmung der Ovulation mehr erzielt wird.

6.3. Diskussion

Dass mit Nembutal bei Meriones keine Hemmung zu bewirken war ist die auffälligste Tatsache unserer Untersuchungen. Von den insgesamt 43 untersuchten Meriones fanden sich nur bei zwei Tieren am Tag nach der Injektion keine Eier. Wir vermuten, dass das Ausfallen der Ovulation bei diesen beiden Tieren nicht auf eine Wirkung des Nembutals, sondern auf andere, uns unbekannte Ursachen (Stress?) zurückzuführen ist. Eventuell ist die LH-Menge, welche nach Beendigung der Wirkung des Pentobarbitals ausgeschüttet wird gross genug, um eine Ovulation einzuleiten.

Unsere bei der Ratte mit Nembutal erhaltenen Resultate stimmen im allgemeinen mit den Ergebnissen von EVERETT (23) überein. Er fand ebenfalls, dass Applikation um 12.00 Uhr bereits zu einer Hemmung der Ovulation führen kann. Bei den um 16.00 Uhr behandelten Ratten, ist bei EVERETT der prozentuelle Anteil der Tiere, bei denen eine für die Ovulation ausreichende Menge von LH ausgeschüttet worden ist, mit 70% etwas höher als bei uns (50%).

Beim Goldhamster ist es, ähnlich wie bei Meriones nicht möglich eine Hemmung der Ovulation mit Nembutal zu erzielen. Selbst mit einer Dosis von 110 ng/kg i.p. konnte keine Wirkung erzielt werden (MARKO (40), pers. Mitteilung).

Phenobarbital dagegen muss, seiner langen Wirkung wegen, als idealer Hemmer der LH-Freisetzung bezeichnet werden. Aus den Resultaten bei Meriones können wir ersehen, dass erst nach 19.00 Uhr bei allen Tieren genügend LH ausgeschüttet wurde,

um eine Ovulation herbeizuführen. Interessanterweise zeigte es sich, dass bei Meriones eine intraperitoneale Gabe von Phenobarbital die Ovulation häufig vollständig blockiert. Es fanden sich bis vier Tage nach der Injektion (65 mg/kg) Oestrusausstriehe. Die Tiere waren während der ganzen Zeit stark sediert (Auskühlung?), verloren Gewicht und erholten sich nur langsam. Einige starben in diesem Zeitraum (meist 2 - 3 Tage nach der Injektion) ohne ovuliert zu haben. Ihre Ovarien zeigten überdimensionierte Follikel Bild 6/3), welche ein atretisches Aussehen haben. Die subcutan behandelten Tiere zeigten bei derselben Dosis nach einer verlängerten Oestrusphase (zwei Tage Oestrus) wieder normale Zyklen von viertägiger Dauer. Die Sedation war bei subcutaner Gabe von Phenobarbital bedeutend geringer. Bei der Ratte erhielt EVERETT (23) mit einer Dosis von 50 mg/kg s.c. ähnliche Resultate wie bei Nembutalbehandlung.

GREENWALD (28) untersuchte die Verhältnisse beim Goldhamster. Er fand, dass bei Tieren, welche um 13.00 Uhr mit Phenobarbital (65 mg/kg s.c.) behandelt wurden die Ovulation vollständig verhindert wird. Bereits um 14.15 Uhr ergibt dieselbe Behandlung nur noch eine 50%-ige Wirkung und um 14.45 Uhr kann keine Hemmung mehr bewirkt werden. Auch ALLEVA et al. (4, 3, 2) fanden beim Goldhamster einen Zeitgeber, der zentral, photoperiodisch kontrolliert wird und zwischen 14.00 und 16.00 Uhr die LH-Ausschüttung ermöglicht.

Bei der Maus postulieren BINGEL & SCHWARTZ (10) eine kritische Phase der Hormonausschüttung am Nachmittag des Prooestrus, welche jedoch bis in den Abend hineinreicht. Sie untersuchten die Verhältnisse mittels Barbital, welches sie in einer Dosis von 400 mg/kg i.p. applizierten. Sie beurteilten jedoch als Kriterium für eine Ausschüttung des LH's nicht allein die Ovulation, sondern auch die Stimulation der Follikel. Auf diese Weise fanden sie am Abend des Prooestrus um 21.00 Uhr zwar noch eine vollständige Hemmung der Ovulation, aber bereits eine grosse Anzahl stimulierter Follikel. Aus diesen Gründen

muss vor 21.00 Uhr bereits eine beträchtliche Menge LH ausgeschüttet worden sein, die aber noch nicht zur Vollendung der Ovulation ausreicht.

Die kürzeste Phase der LH-Freisetzung bei den miteinander verglichenen Spezies finden wir beim Goldhamster. Sie muss auf den Zeitraum zwischen 13.00 und 14.45 eingeschränkt werden. Warum hier mit Nembutal keine Wirkung erzielt werden kann ist unbekannt. Bei der Ratte ist seit langem der Zeitraum zwischen 14.00 und 16.00 Uhr als kritische Periode bekannt. Bei Maus und Meriones sind die Verhältnisse etwas komplizierter. Bei der Maus scheint eine extrem lange Dauer der präovulatorischen LH-Ausschüttung vorzuliegen. Die bei Meriones mit Phenobarbital erhaltenen Resultate lassen vermuten, dass das LH in einer etwas längeren Periode als bei der Ratte freigesetzt wird, dass aber um 19.00 Uhr (Beginn der Dunkelphase) die Ausschüttung beendet sein muss.

7 HEMMUNG DER OVULATION MIT VERSCHIEDENEN ZNS-WIRKSAMEN PHARMAKOLOGISCHEN SUBSTANZEN

7.1 Einleitung

Im vorhergehenden Kapitel versuchten wir primär den Zeitraum der präovulatorischen LH-Ausschüttung abzugrenzen. Als Hilfsmittel verwendeten wir dazu Barbiturate, eine Gruppe von ZNS-wirksamen Substanzen. Im vorliegenden Abschnitt versuchen wir dagegen die Wirkung verschiedener, das Zentralnervensystem beeinflussender Substanzen auf die Ovulation zu untersuchen.

Es gibt eine grosse Anzahl pharmakologischer, nichtsteroider Substanzen, mit denen die Ovulation bei der Ratte gehemmt werden kann. PIVA et al. (50) fassen eine grosse Zahl von Arbeiten auf diesem Gebiet in ihrer Uebersicht zusammen. Da es sich in den meisten Fällen um Resultate handelt, die an der weissen Laborratte gefunden wurden, besteht ein Interesse, ein Vergleich mit an Meriones gefundenen Ergebnissen anzustellen. Diese nichtsteroiden Ovulationshemmer wirken im allgemeinen auf die Entstehung oder Uebertragung des für den LH-Ausstoss notwendigen neuronalen Reizes. Sie hemmen entweder die Entstehung dieses Reizes in den übergeordneten Zentren oder aber dessen Uebertragung auf die Zentren des Hypothalamus.

Dieser für die Ovulation ausschlaggebende Reiz, stammt aus höheren Zentren im Zentralnervensystem (EVERETT (21)). Zu diesem gehören Gebiete wie die Amygdala, die Stria terminalis, der Hippocampus u.a.. Verschiedene Tatsachen sprechen dafür, dass die "biologische Uhr", welche die zur Ovulation führenden Prozesse auslöst, ausserhalb des Hypothalamus in diesen Gebieten zu lokalisieren ist (HALASZ & GORSKI (29), EVERETT (20)).

Die Tatsache, dass bei der Ratte Acetylcholin und die Enzyme zu dessen Abbau im Hypothalamus vorhanden sind, lassen vermuten,

dass cholinerge Fasern auf die hypothalamen Zentren wirken. Da die Aktivität dieser Stoffe in der Ratte rhythmischen Schwankungen unterliegen, die mit dem Ovarialzyklus übereinstimmen, muss angenommen werden, dass Acetylcholin bei der Regelung der Ovulation involviert ist (KOBAYASHI (33)). Ebenso besteht wahrscheinlich eine Kontrolle über monoaminerge Bahnen (FUXE et al. (26)). Diese Fasern stammen aus mesen- und rhombencephalen Zentren (MESS et al. (42)) und ziehen über das mediane Vorderhirnbündel in Zentren des Hypothalamus, in denen die "Releasing Hormones" der gonadotropen Hypophysenhormone synthetisiert werden. Dass dieser monoaminerge Input an der Kontrolle der Gonadotropinsekretion beteiligt ist, beweist die Tatsache, dass Aenderungen des hypothalamen Noradrenalinhaltiges parallele Schwankungen des Gonadotropingehaltes im Hypophysenvorderlappen verursachen (KOBAYASHI et al. (33)). Auch zeigen verschiedene Enzyme, so z.B. die Monoaminoxidase (MAO) zyklische Schwankungen, die mit dem Ovarialzyklus übereinstimmen (KUWABARA et al. (34)).

Die folgende Aufstellung zeigt die Einteilung der nichtsteroiden, ZNS-wirksamen Substanzen, welche hemmend auf die LH-Ausschüttung wirken, wie sie von PIVA et al. (50) vorgenommen wurde. In der Klammer führen wir jeweils die von uns verwendeten Substanzen auf.

- (1) ZNS-Depressoren und Anaesthetica (Nembutal, Phenobarbital)
- (2) Tranquillizer
- (3) Blocker der cholinergen Reizübertragung (Atropin)
- (4) Blocker der adrenergen Reizübertragung
 - (4.1) Antiadrenerge Substanzen
 - alpha-Blocker (Dihydroergotamin, Dibenzylin, Dibenamin)
 - beta-Blocker (Propranolol, LB-46 SANDOZ)
 - (4.2) Catecolamindepletoren (Reserpin, L-Dopa)
 - (4.3) Hemmer der Catecolaminsynthese (Alpha-Methyl-para-Tyrosin)
 - (4.4) Hemmer der Monoaminoxidase
 - (4.5) Serotoninantagonisten (Deseril)

Die beiden ersten Gruppen blockieren wahrscheinlich den Reiz am Entstehungsort, während man von den anderen Gruppen vermutet, dass die Uebertragung des Reizes auf den Hypothalamus verhindert wird. Diese Substanzgruppen wurden zwar an verschiedenen Tierspezies auf ihre ovulationshemmende Wirkung untersucht, allerdings sind nur bei der Ratte umfassende Versuche durchgeführt worden.

7.2 Versuchsanordnung

Es gelangten wiederum nur Weibchen in den Versuch, welche mindestens zwei aufeinanderfolgende viertägige Zyklen aufwiesen. Die Substanzen wurden jeweils am Tag des Prooestrus zu verschiedenen Zeiten vor der vermuteten kritischen Phase der LH-Ausschüttung appliziert und auf ihre ovulationshemmende Wirkung getestet. Dosis und Art der Applikation wurden soweit möglich aus der Literatur übernommen. Wo uns keine Angaben zur Verfügung standen, wählten wir eine Dosis nach eigenem Gutdünken, da es uns, der kleinen Tierzahl wegen, nicht möglich war, für jede Substanz eine Dosiswirkungskurve aufzustellen. Es wurde jedoch nach Möglichkeit immer versucht eine Dosis zu finden, bei der nicht allzugrosse Nebenwirkungen (Dauersedation, starke Gewichtsverluste etc.) auftraten.

Um eine direkte Vergleichsmöglichkeit zu haben, führten wir die Versuche parallel an Ratte und Meriones durch. Als Kriterium einer gehemmten Ovulation galt entweder das Fehlen von Eiern in den Tuben von Oestrustieren (1. Tag nach der Injektion) oder das Auftreten eines zweiten Oestrustages im Vaginalabstrichbild, je nachdem ein Tier seziiert wurde oder nicht. Einige der Tiere wurden erst zwei Tage nach der Injektion (2. Oestrustag bei gehemmten Tieren) seziiert und auf das Vorhandensein von Eiern überprüft. Ausserdem wurden Uterus und Ovarien auf das Vorhandensein der Blähung (Ratte) bzw. der Corpora lutea (Ratte und Meriones) inspiziert. Tiere welche in der Nacht vom Prooestrus zum Oestrus starben, wurden nicht

gewertet, da der genaue Zeitpunkt ihres Todes nicht bekannt war.

7.3 Resultate

Die Tabellen 7/1 bis 7/3 zeigen die Resultate, die bei Meriones und Ratte erhalten wurden. Nicht enthalten sind in diesen Tabellen die Versuche, welche mit Nembutal und Phenobarbital durchgeführt wurden. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den Tabellen 6/1 und 6/2 bereits aufgeführt.

Wir sehen, dass mit Atropin bei Meriones keine Hemmung der Ovulation erzielt werden kann. Bei der Ratte ist dagegen eine vollständige Blockierung des Eisprunges eingetreten.

Alpha-Blocker zeigen alle eine mehr oder weniger starke Wirkung. Dibenamin erweist sich sowohl bei Meriones als auch bei der Ratte als hundertprozentig wirksam. Dibenzylin hemmt bei Meriones vollständig, bei der Ratte nur teilweise, wobei interessanterweise 30 mg/kg keine Wirkung zeigt (12.00 Uhr), während 10 mg/kg um 13.00 Uhr appliziert immerhin eine 40%-ige Hemmung bewirkt. Dihydroergotamin zeigt sowohl bei Meriones (80%) als auch bei Ratten (100%) einen hohen Wirkungsgrad.

Beta-Blocker sind, wenigstens was die beiden verwendeten Substanzen betrifft, nicht zur Blockierung der neuronalen Reizübertragung zu verwenden. Ausser bei einer mit LB-46 behandelten Ratte ovulierten alle untersuchten Tiere (Meriones und Ratte).

Von den Catecholamin-Depletoren verhinderte Reserpin sowohl bei Meriones, als auch bei der Ratte die Ovulation, allerdings konnte bei der Ratte nur eine 80%-ige Hemmung erreicht werden. L-Dopa zeigte sich nur bei der Ratte effektiv. Bei den drei Ratten, welche ovulierten ist zu bemerken, dass die Substanz nicht vollständig gelöst, sondern als Suspension appliziert wurde.

Alpha-Methyl-para-Tyrosin als Catecholaminsynthese-Hemmer

Tabelle 7/1: OVULATIONSHemmUNG

Gruppe		Meriones				Ratte				
Substanz	Zeit	Dosis Appl.	n	ovuliert/ gehemmt	Wirk. %	Zeit	Dosis Appl.	n	ovuliert/ gehemmt	Wirk. %
ZNS - DEPRESSOREN										
NEMBUTAL	siehe	Kapitel 6				siehe	Kapitel 6			
PHENO- BARBITAL	siehe	Kapitel 6				siehe	Kapitel 6			
BLOCKER DER CHOLINERGEN UEBERTRAGUNG										
ATROPIN	1000	700 mg/kg i.p.	5	3 / 0*	0					
	1400	700 mg/kg i.p.	5	1 / 0*	0	1400	700 mg/kg i.p.	5	0 / 5	100
BLOCKER DER ADRENERGEN UEBERTRAGUNG ANTIADRENERGE SUBSTANZEN, alpha - BLOCKER										
DIBENAMIN	1000	100 mg/kg i.p.	5	0 / 5	100	1300	30 mg/kg i.v.	5	0 / 5	100
DIBENZYLIN	1000	30 mg/kg i.p.	5	0 / 5	100	1200	30 mg/kg s.c.	5	5 / 0	0
	1200	20 mg/kg i.p.	5	3 / 2	40	1300	10 mg/kg s.c.	5	3 / 2	40
* restliche Tiere starben kurze Zeit nach der Injektion										

Tabelle 7/2: OVULATIONSHemmUNG (Fortsetzung)

Gruppe		Meriones				Ratte				
Substanz	Zeit	Dosis Appl.	n	ovuliert/ gehemmt	Wirk. %	Zeit	Dosis Appl.	n	ovuliert/ gehemmt	Wirk. %
DIHYDRO- ERGOTAMIN	1000	10 mg/kg i.p.	6	4 / 2	33					
		20 mg/kg i.p.	7	4 / 3	45					
	1200	20 mg/kg i.p.	10	2 / 8	80					
	1400	10 mg/kg i.p.	6	4 / 2	33	1300	5 mg/kg s.c.	5	0 / 5	100
ANTIADRENERGE SUBSTANZEN, beta-BLOCKER										
LB-46 (SANDOZ)	1000	30 mg/kg s.c.	5	5 / 0	0	1000	20 mg/kg s.c.	5	4 / 1	20
	1000	30 mg/kg s.c.	5	5 / 0	0	1000	30 mg/kg s.c.	5	5 / 0	0
	1400	10 mg/kg s.c.	5	5 / 0	0	1300	10 mg/kg s.c.	5	5 / 0	0
CATECHOLAMIN - DEPLETOREN										
L-DOPA	1000	100 mg/kg i.p.	5	5 / 0	0	1000	100 mg/kg i.p.	5	(3) / 2	40
*restliche Tiere starben kurze Zeit nach der Injektion										

zeigte keinerlei Wirkung auf die Ovulation, obwohl eine Dosis gewählt werden musste, die bei allen Meriones und einer grossen Zahl der Ratten letal war.

Der Serotoninantagonist Deseril erwies sich bei beiden Spezies als wirksam, jedoch scheint dabei der Zeitpunkt der Applikation eine wichtige Rolle zu spielen, wirkt doch eine Dosis von 25 mg/kg i.p. um 10.00 Uhr vollständig, nicht aber wenn dieselbe Dosis um 11.00 Uhr gespritzt wird.

Auf eine Wiedergabe der Organgewichte verzichteten wir, da diese bei den vorliegenden Versuchen von sekundärer Bedeutung sind.

7.4 Diskussion

Die Interpretation der erhaltenen Resultate bietet einige Schwierigkeiten, da wir nicht alle Möglichkeiten der Dosierung und Applikation durchtesten konnten. Doch lassen sich generell folgende Feststellungen machen:

- (1) Ratte und Meriones zeigen nicht bei allen Substanzgruppen übereinstimmende Reaktionen.
- (2) Die wirksame Dosis der Substanzen liegt bei Meriones im allgemeinen höher als bei der Ratte.
- (3) Wir schliessen aus diesen Ergebnissen, dass die Steuerung der hypothalamo-hypophysären Achse bei Ratte und Meriones nicht absolut identisch ist.

Bei den ZNS-Depressoren (Barbiturate) möchten wir nochmals auf die vermutlich verlängerte LH-Phase hinweisen, wie sie ähnlich, allerdings erst am Abend des Prooestrus, bei der Maus auftritt (BINGEL & SCHWARTZ (10)). Das Auftreten der verlängerten Oestrusphase nach Phenobarbitalgabe (siehe auch Kapitel 6) lässt vermuten, dass die 24-Stunden-Rhythmik des für die LH-Freisetzung notwendigen Stimulus für mehrere Tage unterdrückt sein kann. Dagegen scheint die (tonische) FSH-Sekretion nicht beeinträchtigt zu werden, da die Follikel weiterhin sehr stark

wachsen. Aus der Literatur sind uns keine Angaben über eine mehrtägige Wirkung einer einmaligen Phenobarbitalgabe bekannt.

Interessant ist auch die Tatsache, dass mit Atropin im Gegensatz zur Ratte (EVERETT et al. (24)) keine Wirkung festzustellen ist. Die Dosis (700 mg/kg) wirkte sogar bei den meisten behandelten Meriones letal, die überlebenden Tiere ovulierten trotz starker Nebenwirkungen vollständig. Allerdings lässt sich daraus, dass Atropin keine Blockierung bewirkt nicht sicher ableiten, dass bei Meriones kein cholinerges Mechanismus bei der Ovulation impliziert ist.

Dagegen wirken verschiedene Gruppen von Substanzen, welche die adrenerge Reizübertragung beeinflussen, sowohl bei Meriones als auch bei der Ratte blockierend auf die Ovulation.

Alpha-Blocker zeigten als Gruppe eine ziemlich umfassende Wirkung, während die Beta-Blocker ineffektiv waren. Dibenamin (EVERETT et al. (24)) und Dibenzylin (MOORE (45)) sind schon länger als wirksame Blocker der spontanen Ovulation bei der Ratte bekannt.

Auch Depletoren der hypothalamen Catecholamine sind seit einiger Zeit als ovulationshemmend bei der Ratte bekannt. BARRACLOUGH & SAWYER (8) zeigten, dass mit Reserpin die spontane Ovulation bei adulten Tieren verhindert wird. Aber auch bei juvenilen Ratten wird die PMS-induzierte Ovulation durch Reserpin gehemmt (COPPOLA (18)). LABSHETWAR (35) konnte durch tägliches Verabreichen kleiner Mengen Reserpin zeigen, dass wahrscheinlich die LH-Synthese im HVL herabgesetzt wird. L-Dopa zeigt keine vollständige Wirkung (Meriones keine, Ratte teilweise Hemmung), während nach COPPOLA (17) Methyldopa die mit PMS-induzierte Ovulation juveniler Ratten vollkommen hemmt. Auch die Versuche, welche mit Alpha-Methyl-para-Tyrosin eine Ovulationshemmung ergaben, sind an juvenilen, PMS-behandelten Ratten durchgeführt worden (LIPPMANN et al. (38)).

Ueber die Wirkungsmechanismen dieser nichtsteroiden Substanzen

auf einzelne Zentren im ZNS (Hypothalamus, übergeordnete Zentren) liegen praktisch noch keine Beobachtungen vor. Erst wenn Resultate über Veränderungen der einzelnen Neurotransmitter und Freisetzungshormone (LH's) während des Ovarialzyklus, sowie deren Verhalten gegenüber nichtsteroiden Ovulationshemmern bekannt sind, lassen sich genauere Aussagen über die Wirkungsweise der einzelnen Substanzen machen. Auch müssen Einflüsse dieser Substanzen auf die Peripherie (Ovar, Uterus) noch aufgeklärt werden. Immerhin darf heute die Beteiligung noradrenerge Mechanismen an der Kontrolle der Ovulation als gesichert gelten. Es konnte auch gezeigt werden, dass durch intraventrikuläre Applikation von Noradrenalin die Nembutal-induzierte Ovulationshemmung aufgehoben werden kann (SAWYER (53)).

8 LH-GEHALT VON HYPOPHYSE UND SERUM

8.1 Einleitung

In Zeitintervallen von 24 Stunden vom Tag des Prooestrus zum Tag des Oestrus laufen eine grosse Anzahl entscheidender Prozesse an der Achse Hypothalamus-Hypophyse-Ovar ab. Durch einen Auslösemechanismus ("trigger") wird die Ausschüttung von LH (und FSH) in Gang gebracht, worauf am Ovar die entscheidenden Umwandlungen im Graaf'schen Follikel stattfinden und die Ovulation eingeleitet wird.

Durch Manipulation an der hypothalamo-hypophysären Achse, z.B. durch Hypophysektomie (EVERETT (22)) oder Applikation von ZNS-wirksamen Substanzen (PIVA et al. (50)) kann die Ausschüttung des für die Ovulation massgebenden LH's verhindert werden. Es findet dann in der Nacht auf den Oestrus keine Ovulation statt. Wird die Hypophysektomie um 14.00 Uhr ausgeführt, so fällt die Ovulation vollständig aus. Um 15.00 Uhr ist aber nur noch eine teilweise Blockierung möglich (EVERETT (22)). Dies beweist, dass die Hypophyse bis zu einem bestimmten Zeitpunkt für die Ovula-

tion absolut benötigt wird, danach aber nicht mehr, da der endokrine Zustand, welcher zur Ovulation führt bereits erreicht ist.

Dank der Ovarian-Ascorbic-Acid-Depletion-Methode (OAAD) von PARLOW (49) wurde es möglich, LH spezifisch und qualitativ zu bestimmen. Dadurch konnte eine weitere Grösse zur Beurteilung der Kontrolle der Ovulation herangezogen werden. Dass LH das Hormon ist, welches die entscheidenden Vorgänge auslöst, die zum Follikelsprung führen, konnte schon verschiedentlich gezeigt werden (SCHWARTZ (57), EVERETT (22)). Ueber die Rolle, welche FSH in der Induktion der Ovulation spielt, herrscht noch keine Klarheit (GOLDMANN & MAHESH (27), CALIGARIS et al. (14), McCLINTOCK & SCHWARTZ (41)). LH wie auch FSH zeigen eine starke Abnahme in der Hypophyse (Nachmittag des Pro-oestrus), welche mit einer Erhöhung des Serumspiegels der beiden Hormone einhergeht (SCHWARTZ & CALDERELLI (56)) mit OAAD-Methode, SCHWARTZ (57), McCLINTOCK & SCHWARTZ (41), CALIGARIS et al. (14)), was beweist, dass die beiden Gonadotropine am Nachmittag einen Höhepunkt der Freisetzung aus der Hypophyse aufweisen. Am Morgen des Oestrustages bewegen sich die Serumwerte von LH und FSH wieder auf niedrigen Werten.

Mit der neueren radioimmunologischen Bestimmungsmethode (RIA) ist es in den letzten fünf Jahren möglich gewesen, mit kleinen Mengen von Serum oder Plasma genaue Wertmessungen vorzunehmen. Dadurch wurde es auch möglich, die tages- und ovarialrhythmischen Veränderungen von LH sowohl im Serum als auch in der Hypophyse zu untersuchen (NAFTOLIN et al. (46) MONROE et al. (44)). Die Ergebnisse zeigten, entsprechend den Erwartungen, dass der LH-Gehalt am Morgen des Prooestrus und Oestrus auf etwa gleich niedrigen Werten lag, und am Nachmittag des Prooestrus bei der Ratte eine stetige Zunahme festzustellen war, die einen Höhepunkt zwischen 16.00 und 18.00 Uhr erreicht. Beim Goldhamster erreichte der Serumgehalt an LH zwischen 15.00 und 18.00 Uhr Höchstwerte (TURGEON & GREENWALD (60)).

Mit der OAAD-Methode wurden auch die LH-Werte in der Hypophyse der Maus (BINGEL & SCHWARTZ (9)) und des Goldhamsters (ORSINI & SCHWARTZ (47)) bestimmt.

Da dem LH vielleicht doch nicht die überragende Rolle im Geschehen um die Ovulation zuzuordnen ist, wie dies in den vergangenen 20 Jahren geschehen ist, sind verschiedene Autoren dazu übergegangen von der Ausschüttung von OH(s) ("Ovulating Hormone(s)") zu sprechen (SAWYER (53), EVERETT (22)).

8.2 Versuchsanordnung

In unseren Untersuchungen bestimmten wir LH vergleichend bei Ratte und Meriones, wobei die Hypophysenwerte mit der OAAD, die Serumwerte mit der RIA-Methode bestimmt wurden. Wir versuchten vergleichend festzustellen, wie weit die Ausschüttung von LH bei Meriones und Ratte übereinstimmen. Das genaue Vorgehen wurde schon im Kapitel 3.3 beschrieben. Als Spendertiere dienten Meriones und Ratten, welche mindestens zwei regelmässige, viertägige Zyklen aufwiesen.

Die Gültigkeit unserer OAAD-Versuche überprüften wir mit einer Varianzanalyse (Computerprogramm SANDOZ). Dabei wurden Regressionen, Parallelität und Linearität der beiden Wirkungsgeraden (Standard und Test) verglichen (CAVALLI-SFORZA (15), BLISS (12)). Die Aktivität (Potency) wurde nach der Standardmethode (CAVALLI-SFORZA (15)) berechnet und mit der 95%-Vertrauensgrenze in den Tabellen wiedergegeben.

Die Ergebnisse sind in "Aktivität/10 mg HVL" ausgeführt. Da uns kein LH als Standard zur Verfügung stand, benutzten wir HCG (ORGANON, OSS) als internen Standard. HCG besitzt eine Aktivität von 0.5 µg LH pro IE (ALBERT (1)).

8.3 Resultate

Tabelle 8/1 gibt die eigenen, an Meriones und Ratte erhaltenen Werte wieder. In der Spalte "Gültigkeit" finden sich mit "+"

LH-BESTIMMUNG MIT DER OAAD-METHODE

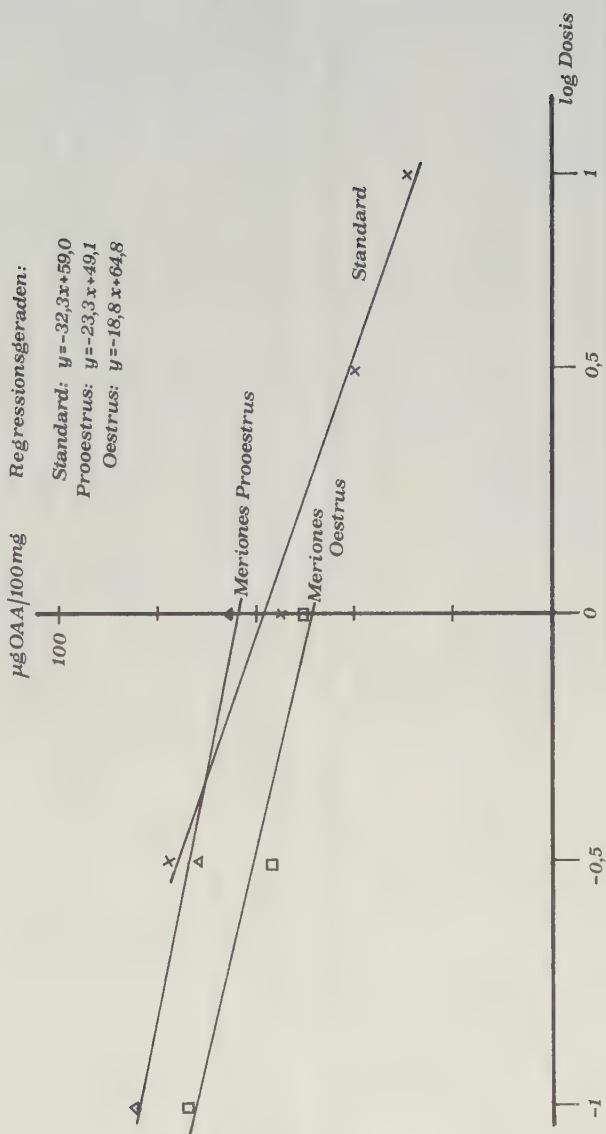


Tabelle 8/1: LH-GEHALT IN DER HYPOPHYSE VON MERIONES UND RATTE

MERIONES									
ZEITPUNKT	n	HVL-GEW. Ø	AKTIVITAET/ 10 mg HVL	REGR. STAND.	REGR. TEST	F REGR.	F PARALL.	F LIN.	GUELTTIG- KEIT
PROOESTRUS 0900	6	4.34	3.01 (1.35- 5.85)	-32.32	-23.28	56.4	1.06	0.68	+
OESTRUS 0900	6	4.74	0.91 (0.31- 1.88)	-32.32	-18.81	57.6	2.64	0.58	+
RATTE									
ZEITPUNKT	n	HVL-GEW. Ø	AKTIVITAET/ 10 mg HVL	REGR. STAND.	REGR. TEST	F REGR.	F PARALL.	F LIN.	GUELTTIG- KEIT
PROOESTRUS 0900	10	9.6	12.9 (9.8 - 17.7)	-33.90	-24.75	228.1	5.56	0.70	(+)
	10	7.4	11.0 (4.5 - 36.2)	-29.60	-18.00	19.9	1.19	0.12	+
OESTRUS 0900	9	10.52	4.09 (2.39- 6.84)	-31.97	-20.85	61.1	2.71	0.44	+
	10	9.46	4.7 (3.0 - 7.9)	-44.87	-32.40	96.11	2.50	1.52	+
	9	10.5	4.6 (3.6 - 5.8)	-33.90	-38.47	280.5	1.12	1.55	+
METOESTRUS 0900	10	10.76	8.98 (5.86- 14.86)	-33.47	-21.18	143.9	4.94	0.76	+

Tabelle 8/2 : VERGLEICH DES LH-GEHALTES DER
 HYPOPHYSE EINIGER NAGER

ART ZEITPUNKT	n	HVL-GEW. Ø	LH-AKTIVITÄT/ 10 mg HVL
M E R I O N E S			
Prooestrus	6	4.34	3.01 (1.35 - 5.85)
Oestrus	6	4.74	0.91 (0.31 - 1.88)
G O L D H A M S T E R *			
Prooestrus	9	3.02	15.9 (8.94 - 27.48)
Oestrus	10	3.31	6.64 (4.83 - 9.66)
Metoestrus	10	3.27	7.33 (5.19 - 10.09)
Dioestrus	12	3.22	17.39 (13.04 - 22.67)
R A T T E (viertägiger Zyklus)			
Prooestrus	10	9.6	12.9 (9.8 - 17.7)
	10	7.4	11.0 (4.5 - 36.2)
Prooestrus**	8	11.6	8.36 (6.12 - 11.46)
Oestrus	9	10.52	4.09 (2.39 - 6.84)
	10	9.46	4.7 (3.0 - 7.9)
	9	10.5	4.6 (3.6 - 5.8)
Oestrus**	9	10.4	3.65 (2.59 - 5.28)
Metoestrus	10	10.76	8.98 (5.86 - 14.86)
Metoestrus**	9	12.0	4.50 (3.25 - 6.25)
Dioestrus**	8	9.1	7.14 (4.94 - 10.10)
M A U S *** (fünftägiger Zyklus)			
Prooestrus	12	2.05	3.02 (0.68 - 6.68)
Oestrus	12	2.45	1.22 (0.40 - 2.24)
Metoestrus	12	1.92	3.07 (1.14 - 5.83)
Dioestrus I	18	1.90	5.36 (3.21 - 8.78)
Dioestrus II	12	1.92	2.81 (0.15 - 8.59)

* Orsini/Schwartz 1966 (47)

** Schwartz 1964 (57)

*** Bingel/Schwartz 1969 (9)

LH-GEHALT IN DER HYPOPHYSE EINIGER NAGER

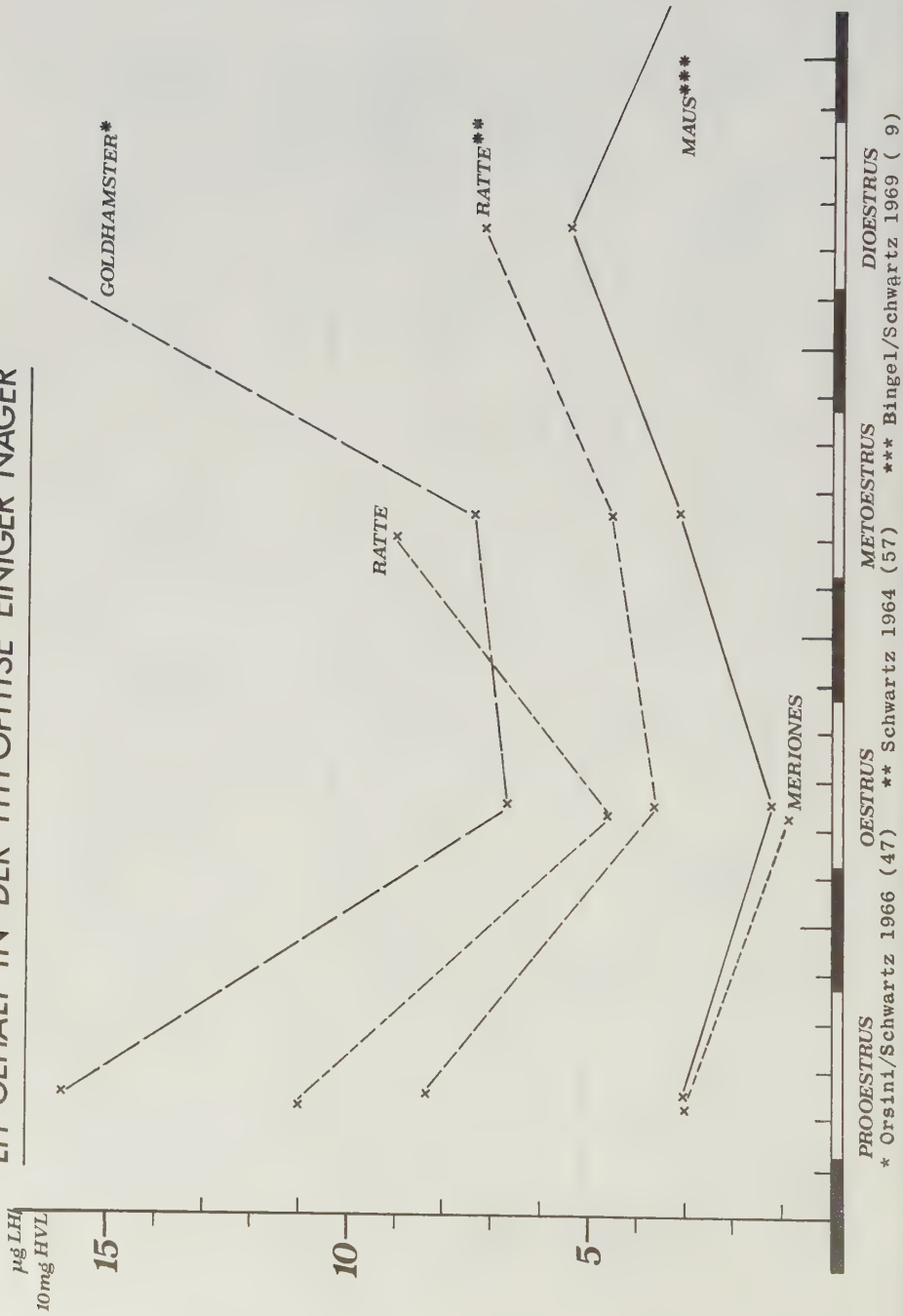


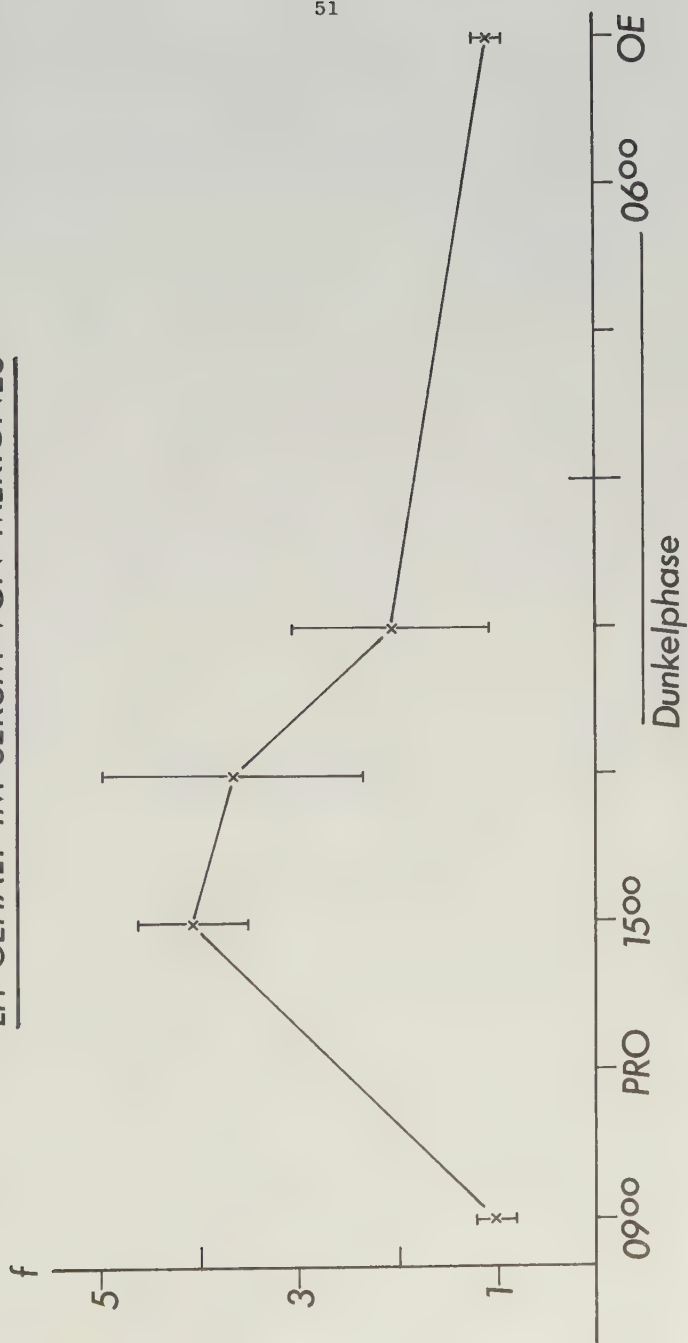
Tabelle 8/3 : LH-GEHALT IM SERUM VON MERIONES AM TAG DES PROOESTRUS

VERSUCH 1 :					VERSUCH 2 :				
n	PRO 0900	PRO 1800	OE 0900	PRO 0900	PRO 1500	PRO 2100	OE 0900		
1	32 0.95	173 5.15	28* 0.83	45 1.06	180 4.23	66 1.55	54 1.27		
2	28 0.83	148 4.40	37 1.10	38 0.89	161 3.78	65 1.53	53 1.24		
3	35 1.04	94 2.80	39 1.16	45 1.06	146 3.43	48 1.13	41 0.96		
4	28* 0.83	78 2.32	28* 0.83		210 4.93	138* 3.24	43 1.01		
5	45 1.34		28* 0.83		197 4.62	80 1.88	45 1.06		
6			28* 0.83		169 3.97	158* 3.71			
7			28* 0.83		190 4.46	57 1.34			
8					130 3.05				
9					176* 4.13				
10					179 4.20				
$\bar{m}$	33.6 1.00	123.2 3.67	30.8 0.92	42.6 1.00	173.8 4.08	87.4 2.05	47.2 1.10		
$\pm s$	7.02 0.21 ng f	44.69 1.33 ng f	4.91 0.14 ng f	4.04 0.09 ng f	23.71 0.56 ng f	42.89 1.01 ng f	5.93 0.14 ng f		

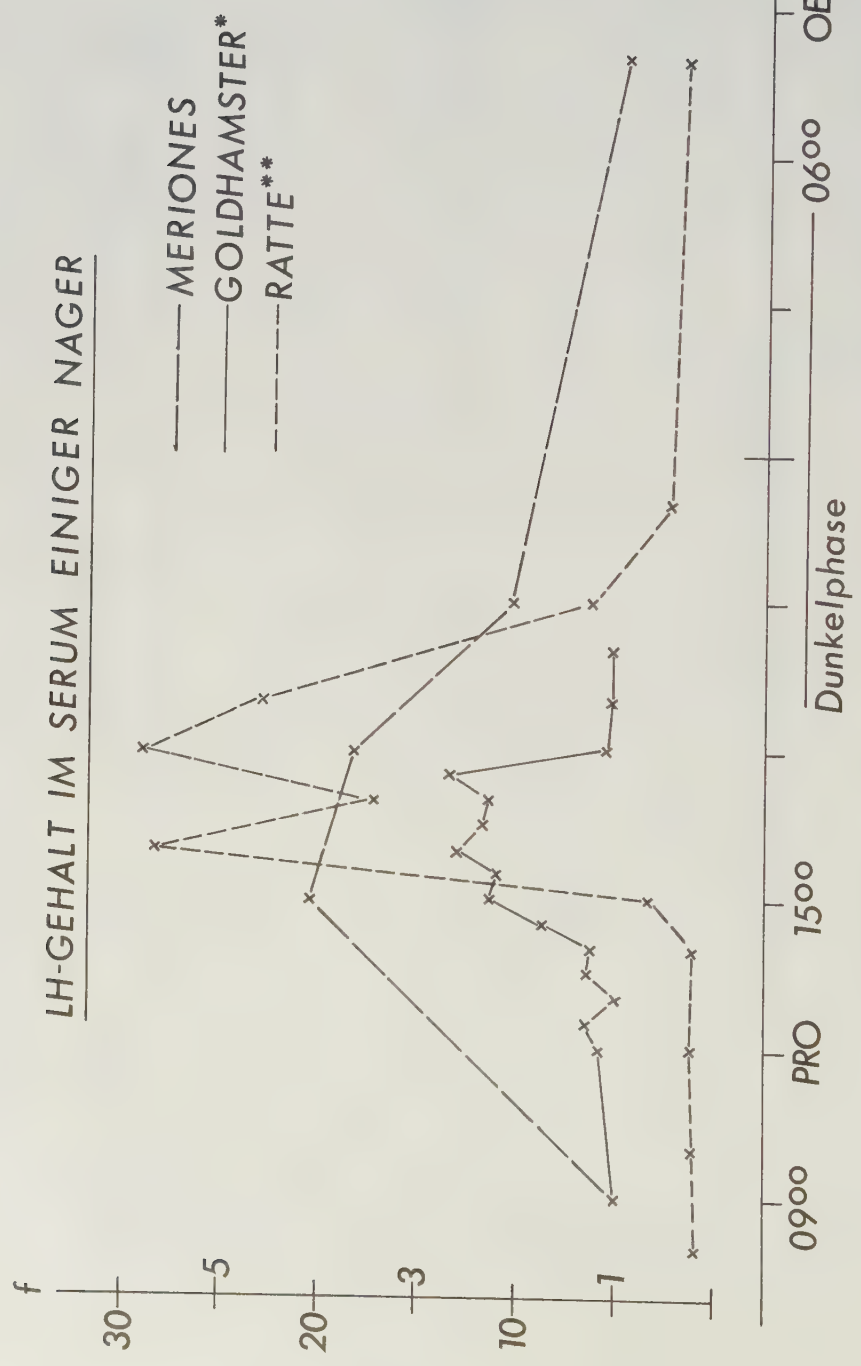
Tabelle 8/4 : LH-GEHALT IM SERUM EINIGER NAGER (RADIOIMMUNOASSAY)

ZEIT	RATTE			GOLDHAMSTER			MERIONES		
	ng / ml	f		ng / ml	f		ng / ml	f	
0800	2.0 ± 0.20	1.00 ± 0.10		10.3 ± 1.02	1.00 ± 0.10		33.6 ± 7.02	1.00 ± 0.21	
0900									
1000	2.2 ± 0.20	1.10 ± 0.10		12.0 ± 1.43	1.17 ± 0.14				
1100	26 ± 5*	1.00 ± 0.19*		13.6 ± 2.60	1.32 ± 0.25				
1200	2.5 ± 0.40	1.25 ± 0.20		10.3 ± 0.94	1.00 ± 0.09				
1230				13.3 ± 2.10	1.29 ± 0.20				
1300				13.0 ± 1.57	1.26 ± 0.15				
1330				17.8 ± 2.10	1.73 ± 0.20				
1400	2.4 ± 0.30	1.20 ± 0.15		23.4 ± 2.90	2.27 ± 0.28		173.8 ± 23.71	4.08 ± 0.56	
1430				22.8 ± 2.50	2.21 ± 0.24				
1500	6.7 ± 1.40	3.35 ± 0.70		26.8 ± 1.56	2.60 ± 0.15				
1530				24.1 ± 1.00	2.34 ± 0.10				
1600	56.8 ± 18.60	28.40 ± 9.30		23.5 ± 1.67	2.28 ± 0.16				
1630				27.6 ± 3.20	2.68 ± 0.31				
1700	34.5 ± 7.20	17.25 ± 3.60		11.5 ± 0.61	1.12 ± 0.06		123.2 ± 44.69	3.67 ± 1.33	
1730									
1800	58.1 ± 12.10	29.05 ± 6.05		10.9 ± 1.00	1.06 ± 0.10				
1800	268 ± 165*	10.31 ± 6.35*		10.7 ± 0.62	1.04 ± 0.06		87.4 ± 42.89	2.05 ± 1.01	
1900	45.8 ± 7.90	22.90 ± 3.95							
2000									
2100	12.5 ± 6.20	6.25 ± 3.10							
2300	4.7 ± 0.40	2.35 ± 0.20							
0800	3.4 ± 0.90	1.70 ± 0.45							
0900	26 ± 3*	1.00 ± 0.12*					30.8 ± 4.91	0.92 ± 0.14	
	Natolin et al. (46)			Turgeon/Greenwald (61)					

LH-GEHALT IM SERUM VON MERIONES



LH-GEHALT IM SERUM EINIGER NAGER



alle jene Ergebnisse, bei welchen sich in allen Möglichkeiten der Variabilität die geforderte Signifikanz bzw. Nicht-Signifikanz ergeben hat. Beim mit "(+)" gekennzeichneten Versuch weicht die Parallelität zwischen Standard und Test signifikant ab (p kleiner 5%). Wir geben den Wert aus informativen Gründen trotzdem an.

Bei der Ratte finden wir LH-Werte, die mit denen aus der Literatur weitgehend übereinstimmen. Nach einem Höchstwert am Morgen des Prooestrus (rund $12 \mu\text{g LH}$) sinkt der LH-Gehalt der Hypophyse innerhalb von 24 Stunden auf einen Tiefstwert von etwa $4.5 \mu\text{g LH/10 mg HVL}$ am Morgen des Oestrus. Am darauffolgenden Tag (Met-oestrus) bewegt sich die Aktivität der Hypophyse mit $8.98 \mu\text{g LH/10 mg}$ auf einem Mittelwert zwischen Höchst- und Tiefststand.

Bei Meriones ist die Abnahme ähnlich stark. Der Prooestruswert ($3.01 \mu\text{g LH/10 mg}$) und der Oestruswert ($0.91 \mu\text{g LH/10 mg}$) sind allerdings rund viermal niedriger als die entsprechenden Werte bei der Ratte.

In Tabelle 8/2 versuchen wir einen Vergleich zwischen den von uns erarbeiteten Werten und Ergebnissen aus der Literatur zu ziehen. Damit die Resultate vergleichbar waren, mussten wir die Werte von Maus (BINGEL & SCHWARTZ (9)), Goldhamster (ORSINI & SCHWARTZ (47)) und der Ratte (SCHWARTZ (57)) in "Aktivität/10 mg HVL" umrechnen.

Die mit der RIA-Methode ermittelten LH-Werte im Serum sind in Tabelle 8/3 (Meriones) und 8/4 (Vergleich einiger Nager) zu finden. Sie zeigen, dass bei Meriones ein Höchstwert um 15.00 Uhr am Nachmittag des Prooestrus gefunden wird. Die Serumwerte bleiben danach bis gegen 21.00 noch recht hoch. Am Morgen des Oestrus sind bei Meriones Serum-LH-Werte zu finden, wie sie schon 24 Stunden früher am Tag des Prooestrus ermittelt wurden.

Auch bei der Ratte sind die Werte am Morgen der beiden Tage (Prooestrus und Oestrus) gleich niedrig. Maximalwerte wurden von uns um 18.00 Uhr gemessen. Die Spitze ist bei der Ratte zehnmal höher als der Ausgangswert (268 ng zu 26 ng). Bei Meriones ist

die Spitze mit 173.8 ng nur viermal grösser als der Wert um 09.00 Uhr am Morgen des Prooestrus (42.6).

Da bei Meriones in den beiden Versuchen die einander entsprechenden Werte am Morgen des Prooestrus und Oestrus signifikant voneinander abwichen, konnten die Ergebnisse nicht direkt miteinander verglichen werden. Um trotzdem einen Vergleich ziehen zu können, berechneten wir einen Faktor "f", der uns die Wertigkeit der Ergebnisse anderer Zeitpunkte im Vergleich zum Ausgangspunkt (Prooestrus 09.00 Uhr = 1.00) angibt. Ebenfalls wurde dieser Faktor für die Werte von NAFTOLIN (46) (Vergleichszeitpunkt 08.00 Uhr Prooestrus) und TURGEON & GREENWALD (61) bei Ratte und Goldhamster berechnet (Tabelle 8/4). Unsere eigenen Ratten-Ergebnisse gehen vom Vergleichszeitpunkt 11.00 Uhr aus und sind mit "*" gekennzeichnet.

8.3 Diskussion

Unsere Resultate bestätigen die Annahme, dass der Mechanismus der LH-Ausschüttung bei Meriones und Ratte nicht grundlegend verschieden ist. Bei beiden Spezies findet am Nachmittag des Prooestrus eine Ausschüttung von LH aus der Hypophyse, verbunden mit einem relativ kurzen Anstieg der Serumwerte, statt. Diese Freisetzung, gekoppelt mit einem am nächsten Morgen noch gut feststellbaren Absinken des LH-Gehaltes in der Hypophyse, ist nach EVERETT (22) als Antwort auf die Spitze der ovariellen Oestrogenproduktion zu werten. MILLS & SCHWARTZ (43) zeigten, dass zwischen 10.00 und 16.00 Uhr am Tag des Prooestrus ein Fall im LH-Gehalt der Rattenhypophyse festzustellen ist.

Ein Vergleich zwischen den vier Spezies zeigt, dass Ratte und Goldhamster generell relativ hohe LH-Aktivitäten in ihren Hypophysen aufweisen, während Meriones und Maus weit niedrigere Werte zeigen. Eine andere Möglichkeit der Interpretation zeigt die folgende Aufstellung, in welcher der LH-Gehalt der Hypophyse am Morgen des Oestrus in Prozentsen des Gehaltes am Morgen des Prooestrus wiedergegeben wird.

SPEZIES	LH-GEHALT PROOESTRUS	LH-GEHALT OESTRUS	%
	ug/10 mg	ug/10 mg	
MERIONES	3.01	0.91	30.23
GOLDHAMSTER*	15.9	6.64	41.76
RATTE	11.0	4.09	37.18
	12.9	4.6	35.65
RATTE**	8.36	3.65	43.66
MAUS***	3.02	1.22	40.39

* ORSINI & SCHWARTZ 1966 (47)

** SCHWARTZ 1964 (57)

*** BINGEL & SCHWARTZ 1969 (9)

Obwohl BINGEL & SCHWARTZ (9) bei der Maus keinen signifikanten Unterschied zwischen Prooestrus und Oestrus erhalten konnten (zu starke Streuung) ist ihr Resultat aus Vergleichsgründen aufgeführt worden. Allgemein ist festzustellen, dass der LH-Gehalt der Hypophyse am Morgen des Oestrus nur ca. 30 - 40% desjenigen des vorangegangenen Tages ausmacht. Besonders wichtig scheint mir aber die Tatsache, dass, unabhängig vom absoluten LH-Gehalt der Hypophyse, die prozentuelle Abnahme sich bei allen vier Spezies im gleichen Rahmen hält.

Es stellt sich nun die Frage, ob Meriones und Maus effektiv geringere LH-Werte zeigen, oder ob die Aktivität des LH-Moleküls dieser Arten im OAAD-Test mit juvenilen Ratten nur teilweise erfasst wird. Immerhin könnten diese niedrigen LH-Werte als Erklärung für das gehäufte Auftreten von Pseudograviditäten bei Meriones (SALZMANN (52)) bzw. Azyklizität bei der Maus (BINGEL & SCHWARTZ (4)) herangezogen werden. Allerdings fehlen entsprechende Untersuchungen über Prolactin (LTH) bei Meriones, so dass keine gesicherte Aussage über den Mechanismus, welcher die Pseudogravidität auslöst gemacht werden kann. Auch müsste erst noch die Frage geklärt werden, welche Rolle FSH bei der Induktion der Ovulation und der Regulation der Zykluslänge spielt.

Ueber den genauen Höhepunkt der LH-Ausschüttung, bzw. den Zeitpunkt der Maximalwerte von LH im Blut, kann bei Meriones noch keine gesicherte Aussage gemacht werden. Zwischen den beiden Höchstwerten um 15.00 und 18.00 Uhr kann der grossen Streuung wegen kein signifikanter Unterschied gefunden werden. Hier müssten erst noch weitere Untersuchungen mit kleineren Zeitabständen und grösserer Probenzahl durchgeführt werden um Klarheit zu schaffen, ob die LH-Ausschüttung, was auch die Resultate mit ZNS-wirksamen Substanzen vermuten lassen, früher als bei der Ratte (NAFTOLIN et al. (46)) auftritt. Ausserdem lassen die Ergebnisse vermuten, dass LH während einer längeren Zeitspanne ausgeschüttet wird. Beim Goldhamster lassen die von TURGEON & GREENWALD (61) erhaltenen Resultate erkennen, dass die LH-Freisetzung etwas früher als bei der Ratte eintritt. Hier sind allerdings die Serumwerte am Morgen des Prooestrus schon sehr hoch und steigen nur um etwa das 2.5-fache an (17.30 Uhr), während der Serumspiegel an LH bei der Ratte um 18.00 Uhr rund 30-fach (eigenes Resultat: 10-fach) und bei Meriones um 15.00 Uhr viermal höher liegt, als der entsprechende Ausgangszeitpunkt.

Folgenden Schluss lassen die bei Meriones gefundenen Ergebnisse mit Sicherheit zu:

Am Nachmittag des Prooestrus steigt der LH-Spiegel im Serum stark an. Diese Erscheinung ist an eine Abnahme des LH-Gehaltes der Hypophyse gekoppelt. Diese LH-Freisetzung ist unbedingt notwendig zur Induktion der Ovulation. Wird diese Freisetzung verhindert, so findet sie 24 Stunden später statt. Diese führt zur Ovulation in der darauffolgenden Nacht.

9 ZUSAMMENFASSUNG

Einige Aspekte der Steuerung der Ovulation bei Meriones und Ratte wurden untersucht. Vergleichende Betrachtungen mit anderen spontan ovulierenden Nagern wurden angestellt.

1. Die Ovulation findet bei Meriones in der Nacht vom Pro-oestrus zum Oestrus statt. Die Tiere beginnen nach 23.00 Uhr zu ovulieren und beenden die Ovulation vor 01.00 Uhr. Dieser Zeitraum schwankt eine Stunde um den Mittelpunkt der Dunkelphase (19.00 - 05.00 Uhr). Die Ovulation findet etwas früher statt als bei der Ratte.
2. Die LH-Periode kann bei Meriones mit Nembutal nicht festgestellt werden. Bei der Ratte liegt sie zwischen 14.00 und 16.00 Uhr (totale Blockierung der Ovulation). Bei Meriones konnte mit Phenobarbital festgestellt werden, dass sie wahrscheinlich nach 12.00 Uhr beginnt und vor 19.00 Uhr (Beginn der Dunkelphase) abgeschlossen ist.
3. Mit verschiedenen ZNS-wirksamen Substanzen konnte die Ovulation sowohl bei Meriones als auch bei der Ratte gehemmt werden. ZNS-Depressoren und Hemmer der adrenergen Reizübertragung sind bei Ratte und Meriones wirksam. Atropin (anticholinerge Substanz) wirkt nur bei der Ratte ovulationshemmend.

Bei Meriones wurden zur Hemmung der Ovulation meist höhere Dosen benötigt als bei der Ratte. Auch mussten wir eine frühere Applikationszeit wählen (10.00 bis 12.00 Uhr). Dies lässt vermuten, dass der neuronale Reiz, der die LH-Freisetzung erleichtert, bei Meriones etwas früher entsteht als bei der Ratte.

4. Die LH-Aktivität der Merioneshypophyse ist im OAAD-Test mit juvenilen Ratten bedeutend niedriger als in der Hypophyse von Ratten. Die Abnahme zwischen dem Morgen des Oestrus ist bei allen miteinander verglichenen Spezies etwa gleich stark.

Die Aktivität im Serum liegt bei Meriones etwas niedriger als im Rattenblut. Bei Meriones findet sich der "Peak" wahrscheinlich um 15.00 Uhr. Um 18.00 Uhr zeigen sich etwas niedrigere Werte. Eine weitere Abnahme findet im

Zeitraum bis 21.00 Uhr statt. Um 09.00 Uhr am Morgen des Oestrus bewegen sich die Werte etwa auf demselben Niveau wie 24 Stunden zuvor.

Die LH-Spitze im Blut von Meriones ist vermutlich niedriger und etwas früher als bei der Ratte. Ausserdem lassen die Ergebnisse vermuten, dass bei Meriones die LH-Freisetzung sich über eine etwas längere Zeit als bei der Ratte erstreckt.

5. Die Regulation der Ovulation bei Meriones und Ratte ist wahrscheinlich nicht grundlegend verschieden. Es zeigen sich aber einige spezifische Unterschiede. So lässt sich das FSH/LH-System bei Meriones schwieriger beeinflussen als bei der Ratte. Interessant wären elektrische oder elektrochemische Untersuchungen in den hypothalamen Zentren der Ovulationssteuerung bei Meriones.
6. Das von SCHWARTZ (55) ausgearbeitete Modell der Kontrolle des Ovulationsablaufes gilt wahrscheinlich mit einigen Modifikationen (Zeitgeber, FSH/LH-Freisetzungsmechanismus) auch für Meriones.

10 LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ALBERT A.
Human Pituitary Gonadotropins
Illinois 1971 (C.C. Thomas)
- 2 ALLEVA J.J., WALESKY M.V., ALLEVA F.R.
A biological clock controlling the estrous cycle of
the master
Endocrinology 88: 1368, 1971
- 3 ALLEVA J.J., WALESKI M.V., ALLEVA F.R., UMBERGER E.J.
Synchronizing effect of photoperiodicity on ovulation
in hamsters
Endocrinology 82: 1227, 1968
- 4 ALLEVA J.J., UMBERGER E.J.
Evidence for neural control in the release of pituitary
ovulating hormone in the golden syrian hamster
Endocrinology 78: 1125, 1966
- 5 ASTWOOD E.B.
Changes in weight and water content of the uterus of
the normal adult rat
Am. J. Physiol. 126: 162, 1941
- 6 AUSTIN C.R.
Ovulation, fertilization and early cleavage in the
hamster (*Mesocricetus auratus*)
J. Royal Micr. Soc. 75(3): 141, 1956
- 7 AUSTIN C.R., BRADEN A.W.H.
time relations and their significance in the ovulation
and penetration of eggs in rats and rabbits
J. Biol. Sci. 7: 179, 1954
- 8 BARRACLOUGH C.A., SAWYER C.H.
Blockade of the release pituitary ovulatory hormone
in the rat by chlorpromazine and reserpine: possible
mechanisms of action
Endocrinology 61: 341, 1957

- 9 BINGEL A.S., SCHWARTZ N.B.
Pituitary LH-content and reproductive tract changes during the mouse oestrus cycle
J. Reprod. and Fert. 19: 215, 1969
- 10 BINGEL A.S., SCHWARTZ N.B.
Timing of LH-release and ovulation in the cyclic mouse
J. Reprod. and Fert. 19: 223, 1969
- 11 BLANDAU R.J., BOLING J.L., YOUNG W.C.
The length of heat in the albino rat as determined by the copulatory response
Anat. Rec. 79: 453, 1941
- 12 BLISS C.I.
Analysis of the biological assays in USP
Drug Standards 24: 33, 1956
- 13 BOLING J.L., BLANDAU R.J., SODERWALL A.L., YOUNG W.C.
Growth of the Graafian follicle and the time of ovulation in the albino rat
Anat. Rec. 79: 313, 1941
- 14 CALIGARIS L., ASTRADA J.J., TALEISNIK S.
Pituitary FSH-concentration in the rat during the rat oestrus cycle
Endocrinology 81: 1261, 1967
- 15 CAVALLI-SFORZA L.
Biometrie, Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik
Fischer, Stuttgart, 1972
- 16 CHRITSCHLOW V.
Ovulation induced by hypothalamic stimulation in the anaesthetized rat
Am. J. Physiol. 195: 171, 1958
- 17 COPPOLA J.A., LEONARDI R., LIPPMANN W.
Ovulatory failure in rats after treatment with brain norepinephrine depletors
Endocrinology 78: 225, 1966

- 18 COPPOLA J.A., LEONARDI R.G., LIPPMANN W., PERINNE J.W.,
RINGLEY I.
Induction of pseudopregnancy in rats by depletors of
endogenous catecholamines
Endocrinology 77: 485, 1965
- 19 EVERETT J.W.
Ovulation in rats from preoptic stimulation through
platinum electrodes: Importance of duration and spread
of stimulus
Endocrinology 76: 1195, 1965
- 20 EVERETT J.W.
Central neural control of reproductive functions of
the adenohipophysis
Physiol Reviews 44: 373, 1964
- 21 EVERETT J.W.
The mammalian female reproductive cycle and its
controlling mechanisms
in "Sex and internal secretions" (Young W.C.)
Baltimore
- 22 EVERETT J.W.
The time of release of ovulating hormone from the
rat hypophysis
Endocrinology 59: 580, 1956
- 23 EVERETT J.W., SAWYER C.H.
a 24-hour periodicity in the "LH-release apparatus"
of the female rats, disclosed by barbiturate sedation
Endocrinology 47: 198, 1950
- 24 EVERETT J.W., SAWYER C.H., MARKEE J.E.
A neurogenic timing factor in control of the ovulatory
discharge of LH in the cyclic rat
Endocrinology 44: 234, 1949
- 25 EVERETT J.W.
Progesteron and Estrogen in the experimental control
of ovulation time and other features of the estrus
cycle in the rat
Endocrinology 43: 389, 1948

- 26 Fuxe K., HOEKFELT T.
The influence of central catecholamine neurons on
the hormone secretion from the anterior and posterior
pituitary
in: "Neurosecretion" (Stutinsky F.) Berlin 1967

- 27 GOLDMANN B.D., MAHESH V.B.
Fluctuation in pituitary FSH during the ovulatory cycle
in the rat and a possible role of FSH in the induction
of ovulation
Endocrinology 83: 97, 1968

- 28 GREENWALD G.S.
Preovulatory changes in ovulating hormone in the cyclic
hamster
Endocrinology 88: 671, 1971

- 29 HALASZ B., GORSKI R.A.
Gonadotrophic hormone secretion in female rats after
partial or total interruption of neural afferents to
the medial basal hypothalamus
Endocrinology 80: 608, 1967

- 30 HARVEY E.B., YANAGIMACHI R., CHANG M.C.
Onset of estrus and ovulation in the golden hamster
J. exp. Zool. 146: 231, 1961

- 31 HEMINGSSEN A.M., KRARUP N.B.
The production of mating instincts in the rat with
chemically well defined estrogenic compounds
Biol. Med. KBH 13: 1, 1937

- 32 HUMMEL R.
Untersuchungen über den Elektrolyt- und Wasserhaushalt
von Meriones shawii shawii
Helv. physiol. pharmacol. Acta, Suppl.XIV: 1, 1963

- 33 KOBAYASHI H., UEMARA H., MATSUI T.
Adrenergic Mechanism in the mammalian median eminence
Gen. comp. Endocr. 9: 465, 1967

- 34 KUWABARA S., RUSSFIELD A., WEISZ J., LLOYD C.W.
Forty-ninth Meeting of the Endocrine Society 1967
- 35 LABSHETWAR A.R.
Differential effects of reserpine on pituitary LH-
and FSH-levels in the female rats
Endocrinology 81: 357, 1957
- 36 LATASTE F.
Notes prises au jour le jour sur différentes espèces
de l'orde des rongeurs observées en captivité
Acte de la Société Linnéenne de Bordeaux 40: 293, 1887
- 37 LEWIS W.H., WRIGHT E.S.
On the early development of the mouse egg
Contr. to Embryology 25: 155, 1935, Carnegie Inst. Wash.
- 38 LIPPMANN W., LEONARDI R., BALL J., COPPOLA J.A.
Relationship between hypothalamic catecholamines and
gonadotrophin-secretion in rats
Pharmacol exp. Ther. 156: 258, 1967
- 39 LONG J.A., EVANS H.M.
The oestrus cycle in the rat and its associated phenomena
Mem. Univ. Calif. 6: 1922
- 40 MARKO M
(persönliche Mitteilung, 1972)
- 41 McCLINTOCK J.A., SCHWARTZ N.B.
Changes in plasma-FSH and pituitary FSH-concentration
during the rat oestrus cycle
Endocrinology 83: 438, 1968
- 42 MESS B., FRASCHINI F., MOTTA M., MARTINI L.
The topography of neurons snythetizing the hypothalamic
releasing factors
in "Hormonal Steroids", Amsterdam 1967
- 43 MILLS J.M., SCHWARTZ N.B.
Ovarian ascorbic acid as an endogenous and exogenous
assay for cyclic prooestrus LH-release
Endocrinology 69: 844, 1961

- 44 MONROE S.E., REBAR R.W., GAY V.L., MIDGLEY A.R.
Radioimmunoassay determination of luteinizing hormone during the estrous cycle of the rat
Endocrinology 85: 720, 1969
- 45 MOORE W.W.
Failure of adrenergic and cholinergic blocking agents to block ovulation in the rat
Am J. Physiol. 200: 1293, 1961
- 46 NAFTOLIN F., BROWN-GRANT K., CORKER C.S.
Plasma and pituitary LH and peripheral plasma oestradiol concentration in the normal oestrus cycle of the rat and after experimental manipulation of the cycle
J. Endocr. 53: 17, 1972
- 47 ORSINI-WARD M.C., SCHWARTZ N.B.
Pituitary LH-content during the estrous cycle in female hamsters: Comparisons with males and acyclic females
Endocrinology 78: 34, 1966
- 48 ORSINI-WARD M.C.
The external vaginal phenomena characterizing the stages of the estrous cycle, pregnancy, pseudopregnancy, lactation and the anestrus hamster, *Mesocricetus auratus*
Proc. Anim. Care Panel 11(4): 193, 1961
- 49 PARLOW A.F.
A rapid bioassay for LH and factors stimulating LH-secretion
Fed. Proc. 17: 402, 1958
- 50 PIVA F., STERESCU N., ZANINI M., MARTINI L.
Non-steroidal antifertility agents affecting brain mechanisms
Bull. Wld. Hlth. Org. 41: 275, 1969
- 51 ROMER A.S.
Vergl. Anatomie der WT, 1966
Parey Hamburg
- 52 SALZMANN R.C.
Beiträge zur Fortpflanzungsbiologie von *Meriones shawi*
Revue Suisse de Zoologie 70: 343, 1963

- 53 SAWYER C.H.
Regulatory mechanisms of secretion of gonadotrophic hormones
in "The Hypothalamus" (W. Haymaker) Springfield 1971
- 54 SAWYER C.H.
Electrophysiological correlates of release of pituitary ovulating hormones
Fed. Proc. 29(6): 1895, 1970
- 55 SCHWARTZ N.B.
A model for the regulation of the ovulation in the rat
Rec. Progr. Horm. Res. 25: 1, 1969
- 56 SCHWARTZ N.B., CALDERELLI D.
Plasma LH in cyclic female rats
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 119: 16, 1965
- 57 SCHWARTZ N.B.
Acute effects of ovariectomy on pituitary LH, uterine weight and vaginal cornification
Ma. J. Physiol. 207: 1251, 1964
- 58 SNELL G.D.
Biology of the laboratory mouse
Philadelphia 1941
- 59 SNELL G.C., FEKETE E., HUMMEL K.P., LAW L.W.
The relation of mating, ovulation and estrous smear in the house mouse to time of day
Anat. Rec. 76: 39, 1940
- 60 STRAUSS F.
The time and place of fertilization of the golden hamster egg
J. Embryol. and exp. Morph. 4: 42, 1956
- 61 TURGEON J., GREENWALD G.S.
Preovulatory levels of plasma LH in the cyclic hamster
Endocrinology 90: 657, 1972

62 WARD M.C.

A Study of the oestrous cycly and the breeding of the
golden hamster, *Mesocrecetus auratus*

Anat. Rec. 94: 139, 146

63 WARD M.C.

in HARVEY et al. (29).

Curriculum vitae

Am 1. Dezember 1946 wurde ich, Peter Urs Sprecher, als Sohn des Erwin Sprecher, Chemiewerker von Basel und der Elisabeth Sprecher, geb. Wenger in Basel geboren.

1966 bestand ich an der Kantonalen Handelsschule Basel die Maturitätsprüfung und immatrikulierte mich im gleichen Jahr an der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel. Das Studium umfasste als Hauptfach Zoologie, die Nebenfächer Botanik und Chemie, sowie die Wahlfächer Medizinische Mikrobiologie, Physiologie und Paläontologie. In den Jahren 1968 und 1969 legte ich die beiden Vordiplomprüfungen ab, 1970 bestand ich die Diplomprüfung in Zoologie. Seit 1969 bin ich mit Frl. Margrit Valli verheiratet.

Im Verlaufe meines Studiums besuchte ich Vorlesungen und Kurse bei folgenden Dozenten:

H. Andresen, H. Annaheim, H. Erlenmeyer, S. Fallab,
P. Fioroni, E. Flückiger, W. Galluser, M. Geiger-Huber,
R. Geigy, C. Hottinger, L. Jenny, E. Lang, P. Leepin,
H. Löffler, M. Monnier, H. Nüesch, A. Portmann,
R. Schenkel, P. Schmid, M. Staehelin, R.A. Stamm,
W. Stingelin, Ch. Tamm, H. Zoller

Die vorliegende Arbeit entstand unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. sc. nat. Edward W. Flückiger.

